

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
27 janvier 2005 (27.01.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/007653 A2

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C07D 471/04

Louvres (FR). TABART, Michel; 3, rue Paul Langevin,
F-91290 La Norville (FR).

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/001778

(74) Mandataire : RABOIN, Jean-Christophe; AVENTIS
PHARMA S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond
Aron, F-92165 Antony Cedex (FR).

(22) Date de dépôt international : 8 juillet 2004 (08.07.2004)

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Langue de dépôt :

français

(26) Langue de publication :

français

(30) Données relatives à la priorité :
03/08442 10 juillet 2003 (10.07.2003) FR
03/08441 10 juillet 2003 (10.07.2003) FR

(71) Déposant : AVENTIS PHARMA S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventeurs: THOMPSON, Fabienne; 25, rue Cotte, F-75012 Paris (FR). MAILLIET, Patrick; 87, rue Dalayrac, F-94120 Fontenay sous Bois (FR). DAMIANO, Teresa; 125, rue de Tolbiac, F-75013 Paris (FR). CHERRIER, Marie-Pierre; 75, avenue Georges Gosnat, F-94200 Ivry sur Seine (FR). CLERC, François; 35, boulevard Colbert, F-92160 Antony (FR). HALLEY, Frank; 26, rue de la Borne au Diable, F-92310 Sèvres (FR). BOUCHARD, Hervé; 17, allée de la Prévôté, F-94320 Thiais (FR). GAUZY-LAZO, Laurence; 14, rue Liancourt, F-75014 Paris (FR). BAUDOIN, Bernard; 3, rue Anatole France, F-92370 Chaville (FR). SOUAILLE, Catherine; 12, avenue Jean Bouin, F-94600 Choisy le Roi (FR). VIVIANI, Fabrice; 46, rue Jules Fossier, F-95380

(84) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

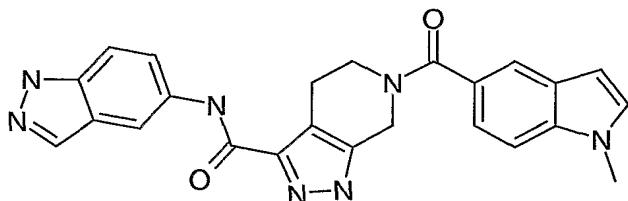
En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

(54) Title: SUBSTITUTED TETRAHYDRO-1<I>H</I>-PYRAZOLO[3,4-C]PYRIDINES, COMPOSITIONS CONTAINING SAME AND USE

(54) Titre : TETRAHYDRO-1H-PYRAZOLO[3,4-C]PYRIDINES SUBSTITUEES, COMPOSITIONS LES CONTENANT ET UTILISATION

A2

WO 2005/007653



(I)

(57) Abstract: The invention concerns substituted tetrahydro-1<I>H</I>-pyrazolo[3,4-c]pyridines, compositions containing same and use thereof. The invention concerns in particular novel substituted tetrahydro-1<I>H</I>-pyrazolo[3,4-c]pyridines having a therapeutic activity, useful in particular in oncology.

(57) Abrégé : Tétrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridines substituées, compositions les contenant et utilisation. La présente invention concerne notamment de nouvelles tétrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridines substituées ayant une activité thérapeutique, utilisables en particulier en oncologie.

TETRAHYDRO-1H-PYRAZOLO[3,4-c]PYRIDINES SUBSTITUEES,
COMPOSITIONS LES CONTENANT ET UTILISATION.

La présente invention concerne de nouveaux composés chimiques, particulièrement de nouvelles tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines, des compositions les contenant, et leur utilisation comme médicaments.

Plus particulièrement, l'invention concerne de nouvelles tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines présentant une activité anticancéreuse, et en particulier une activité inhibitrice de kinases, notamment Tie2.

Seules quelques tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines sont connues.

10 Ainsi, WO 02/012442 divulgue des tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines substituées en position 5 par un groupement amino, éventuellement substitué. Ces produits sont utiles pour le traitement du cancer et d'autres maladies liées à une prolifération cellulaire.

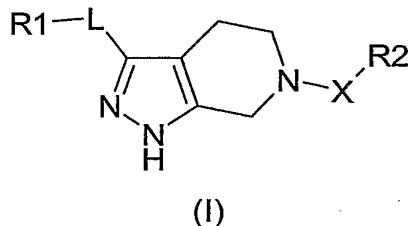
15 P. Krogsgaard-Larsen et al. dans Eur. J. Med. Chemical – Chim. Ther. (1979), 14(2), p.157-164 divulgue deux tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines substituées en position 3 par un groupement hydroxy.

20 WO 96/12720 revendique des tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines substituées en position 3 par des substituants choisis parmi H, alkyle, alkylène, cycloalkyle, et méthylènecycloalkyle, et en positions 1 et 6 par des substituants variés. Ces produits sont décrits comme inhibiteurs (i) de phosphodiesterase de type IV (PDE-IV), et (ii) de facteur de nécrose tumorale (TNF), et sont, de ce fait, considérés utiles dans le traitement de maladies inflammatoires. Aucun exemple de composé selon l'invention n'est divulgué.

25 Des tentatives pour obtenir des inhibiteurs efficaces de Tie2 ont déjà abouti dans le passé (voir à ce propos, par exemple, WO 98/02434 ; WO 98/41525 ; WO 99/10325 ; WO 99/17770 ; WO 99/54286 ; WO 99/21859 ; WO 99/55335 ; WO 00/17202 ; WO 00/17203 ; WO 00/27822 ; WO 00/75139 ; WO 01/37835 ; WO 01/57008 ; WO 01/72751 ; WO 02/060382 ; WO 02/076396 ; WO 02/076463 ; WO 02/076954 ; WO 02/076984 ; WO 30 02/076985 ; WO 02/080926 ; WO 03/004488).

Toutefois, aucun de ces documents ne divulgue de dérivés de 4,5,6,7-tétrahydro-1*H*-pyrazolo[3,4-*c*]pyridines telles que définies plus loin, présentant une activité à l'encontre de kinases, en particulier Tie2.

A cet effet, les produits conformes à l'invention selon son premier aspect répondent à la formule (I) suivante :



5 et ses tautomères, dans laquelle :

L est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO, NHCO, NH, NSO₂, SO₂NH, NHCONH, CH₂NH, NHCH₂,

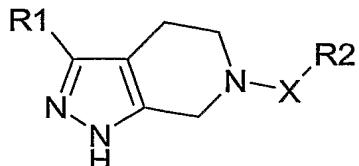
X est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO ;

R1 est choisi parmi OH, H, alkyle, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, 10 hétéroaryle, éventuellement substitué, et, lorsque X est liaison, alors R1 peut aussi être halogène;

R2 est H ou choisi parmi alkyle, alkylène, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

les substituants étant indépendamment choisis parmi R3, O-R3, halogène, 15 NO₂, SO₂-R3, CO-R3, SO₂NH-R3, CONH-R3, N-(R3)₂, NHCO-R3, NSO₂-R3, NHCONH-R3, NSO₂NH-R3, OCO-R3, COO-R3, OSO₂-R3, SO₂O-R3, OCONH-R3, OSO₂NH-R3, où chaque R3 est indépendamment choisi parmi H, alkyle, cycloalkyle, alcène, aryle, hétéroaryle, hétérocyclyle, éventuellement substitué par halogène, aryle, hétéroaryle, R4, OR4, N(R4)₂, 20 chaque R4 étant indépendamment choisi parmi H, C₁-C₄ alkyle, et C₁-C₄ alkyle halogéné.

Des produits conformes à l'invention selon son premier aspect sont plus particulièrement choisis parmi des produits de formule générale (II) suivante :



et ses tautomères, dans laquelle :

X est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO ;

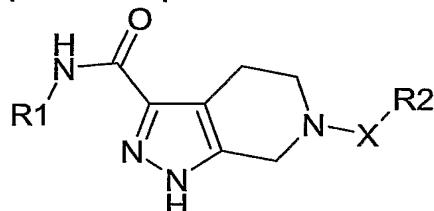
R1 est choisi parmi alkyle, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

5 R2 est H ou choisi parmi alkyle, alkylène, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

les substituants étant indépendamment choisis parmi R3, O-R3, halogène, NO₂, SO₂-R3, CO-R3, SO₂NH-R3, CONH-R3, N-(R3)₂, NHCO-R3, NSO₂-R3, NHCONH-R3, NSO₂NH-R3, OCO-R3, COO-R3, OSO₂-R3, SO₂O-R3,

10 OCONH-R3, OSO₂NH-R3, où chaque R3 est indépendamment choisi parmi H, alkyle, cycloalkyle, alcényle, aryle, hétéroaryle, hétérocyclyle, éventuellement substitué par halogène, aryle, hétéroaryle, OR4, N(R4)₂, où chaque R4 est indépendamment choisi parmi H, C1-C4 alkyle.

Des produits conformes à l'invention selon son premier aspect sont plus particulièrement choisis parmi des produits de formule générale (III) suivante :



15

(III)

et ses tautomères, dans lesquels :

X est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO ;

R1 est choisi parmi alkyle, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle,

20 éventuellement substitué ;

R2 est H ou choisi parmi alkyle, alkylène, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

dans lequel les substituants sont indépendamment choisis parmi R3, O-R3, halogène, NO₂, SO₂-R3, CO-R3, SO₂NH-R3, CONH-R3, N-(R3)₂, NHCO-R3,

25 NSO₂-R3, NHCONH-R3, NSO₂NH-R3, OCO-R3, COO-R3, OSO₂-R3, SO₂O-R3, OCONH-R3, OSO₂NH-R3, dans lequel chaque R3 est indépendamment choisi parmi H, alkyle, cycloalkyle, alcényle, aryle, hétéroaryle, hétérocyclyle, éventuellement substitué par halogène, aryle,

hétéroaryle, OR₄, N(R₄)₂, et dans lequel chaque R₄ est indépendamment choisi parmi H, C₁-C₄ alkyle.

Un produit conforme à l'invention est avantageusement choisi parmi les produits selon son premier aspect, dans lesquels R₁ est hétéroaryle, éventuellement substitué, dans lequel un hétéroaryle préféré est choisi parmi benzimidazolyle, indolyle, pyrrolyle, éventuellement substitué par halogène, R₄, O-R₄.

Plus particulièrement, un hétéroaryle préféré est choisi parmi benzimidazol-2-yle, indol-2-yle, pyrrol-2-yle, éventuellement substitué par halogène, R₄, O-R₄.

Un produit conforme à l'invention selon son premier aspect a avantageusement un substituant R₂ choisi parmi phényle, pyridyle, thiényle, C₁-C₄ alkyle, et C₃-C₇ cycloalkyle, éventuellement substitué.

X peut être avantageusement choisi parmi CO et SO₂.

Un produit conforme à l'invention selon son premier aspect est avantageusement choisi parmi les produits de formule (I), dans laquelle R₁ est H.

Un produit préféré est avantageusement choisi parmi les produits de formule (I) dans lesquels R₁ est aryle substitué.

Selon un premier mode de réalisation préféré, un produit préféré est avantageusement choisi parmi les produits de formule générale (I) dans lesquels R_{1-L} est R₁-NH-CO, et plus préférentiellement dans les cas où R₁ est H.

Très préférentiellement, et selon un second mode de réalisation préféré, un produit préféré est avantageusement choisi parmi (i) les produits de formule générale (I) ou (ii) de préférence les produits selon le premier mode de réalisation préféré, dans laquelle X est liaison, et dans laquelle R₂ est choisi parmi aryle substitué et hétéroaryle substitué.

Selon un troisième mode de réalisation préféré, un produit plus préféré est choisi parmi les produits conformes à l'invention selon son second mode de réalisation, dans lequel R₂ est choisi parmi

- aryle substitué par $\text{NHSO}_2\text{-R3}$ ou NHCONH-R3 , et
- hétéroaryle substitué par $\text{NHSO}_2\text{-R3}$, ou NHCONH-R3 .

Des produits selon le troisième mode de réalisation préféré sont avantageusement choisis parmi

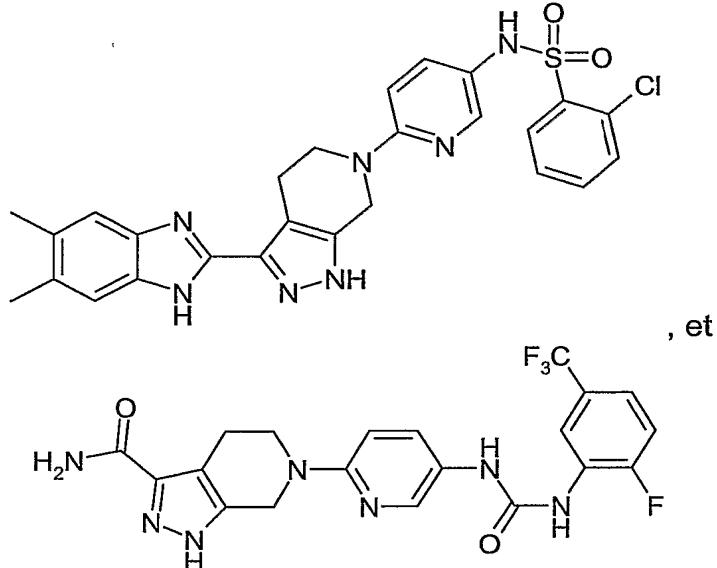
- 5
 - aryle substitué par $\text{NHSO}_2\text{-R3}$ ou NHCONH-R3 , et
 - hétéroaryle substitué par $\text{NHSO}_2\text{-R3}$, ou NHCONH-R3 ,
 dans lequel aryle est phényle, et dans lequel hétéroaryle est choisi parmi pyridyle et pyrimidyle.

10 Selon un quatrième mode de réalisation, des produits selon le troisième mode de réalisation préféré sont avantageusement choisis parmi

- aryle substitué par $\text{NHSO}_2\text{-R3}$ ou NHCONH-R3 , et
 - hétéroaryle substitué par $\text{NHSO}_2\text{-R3}$, ou NHCONH-R3 ,
- dans lesquels R3 est choisi parmi aryle substitué et hétéroaryle substitué, dans lequel R3 est avantageusement substitué par un substituant sélectionné
- 15 dans le groupe constitué par halogène, R4, OR4, N(R4)₂, dans lequel chaque R4 est indépendamment choisi parmi H, C₁-C₄ alkyle, et C₁-C₄ alkyle halogéné.

Selon un cinquième mode de réalisation, des produits selon le quatrième mode de réalisation préféré sont avantageusement choisis parmi:

20



, et

Un produit conforme à l'invention selon son premier aspect, peut se présenter sous forme :

- 1) racémique, ou
- 2) enrichie en un stéréoisomère, ou
- 3) enrichie en un énantiomère ;

et être éventuellement salifié.

5 Selon un second aspect, l'invention concerne des compositions pharmaceutiques comprenant un produit tel que défini précédemment, en combinaison avec un excipient pharmaceutiquement acceptable.

Selon un troisième aspect, l'invention concerne l'utilisation d'un produit tel que défini précédemment, comme agent modulant l'activité d'une kinase. Une 10 kinase préférée sera avantageusement choisie parmi Tie2 et KDR. Tie2 est plus préférée.

Selon son troisième aspect, l'invention concerne l'utilisation d'un produit tel que défini précédemment, pour la fabrication d'un médicament utile pour traiter un état pathologique, en particulier le cancer.

15 Des produits conformes à l'invention peuvent être obtenus par de méthodes bien connues de l'homme de l'art, en particulier en ce qui concerne les techniques de couplage entre un acide et une amine. Voir, par exemple, J. March, Advanced organic chemistry, (J. Wiley & Sons, ed.), quatrième édition, 1992.

20 Les produits de l'invention sont utiles comme agents inhibiteurs d'une réaction catalysée par une kinase. Tie2 est une kinase pour laquelle les produits de l'invention seront particulièrement utiles en tant qu'inhibiteurs. Ces produits peuvent aussi être utiles comme inhibiteurs d'autres kinases telles que KDR.

25 Des raisons pour lesquelles ces kinases sont choisies sont données ci-après :

Tie2

Tie-2 (TEK) est un membre d'une famille de récepteurs à tyrosine kinase, spécifique des cellules endothéliales. Tie2 est le premier récepteur à activité 30 tyrosine kinase dont on connaît à la fois l'agoniste (angiopoïetine 1 ou Ang1) qui stimule l'autophosphorylation du récepteur et la signalisation cellulaire [S. Davis et al (1996) *Cell* 87, 1161-1169] et l'antagoniste (angiopoïetine 2 ou Ang2) [P.C. Maisondieu et al. (1997) *Science* 277, 55-60]. L'angiopoïetine 1 peut synergiser avec le VEGF dans les derniers stades de la néo-

angiogénèse [Asahara *T. Circ. Res.* (1998) 233-240]. Les expériences de knock-out et les manipulations transgéniques de l'expression de Tie2 ou de Ang1 conduisent à des animaux qui présentent des défauts de vascularisation [D.J. Dumont *et al* (1994) *Genes Dev.* 8, 1897-1909 et C. Suri (1996) *Cell* 87, 1171-1180]. La liaison d'Ang1 à son récepteur conduit à l'autophosphorylation du domaine kinase de Tie2 qui est essentielle pour la néovascularisation ainsi que pour le recrutement et l'interaction des vaisseaux avec les péricytes et les cellules musculaires lisses ; ces phénomènes contribuent à la maturation et la stabilité des vaisseaux nouvellement formés [P.C. Maisondieu *et al* (1997) *Science* 277, 55-60]. Lin *et al* (1997) *J. Clin. Invest.* 100, 8: 2072-2078 et Lin P. (1998) *PNAS* 95, 8829-8834, ont montré une inhibition de la croissance et de la vascularisation tumorale, ainsi qu'une diminution des métastases de poumon, lors d'infections adénovirales ou d'injections du domaine extracellulaire de Tie-2 (Tek) dans des modèles de xénographes de tumeur du sein et de mélanome.

Les inhibiteurs de Tie2 peuvent être utilisés dans les situations où une néovascularisation se fait de façon inappropriée (c'est-à-dire dans la rétinopathie diabétique, l'inflammation chronique, le psoriasis, le sarcome de Kaposi, la néovascularisation chronique due à la dégénération maculaire, l'arthrite rhumatoïde, l'hémoangiome infantile et les cancers).

KDR

KDR (Kinase insert Domain Receptor) aussi appelée VEGF-R2 (Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2), est exprimé uniquement dans les cellules endothéliales. Ce récepteur se fixe au facteur de croissance angiogénique VEGF, et sert ainsi de médiateur à un signal transductionnel via l'activation de son domaine kinase intracellulaire. L'inhibition directe de l'activité kinase de VEGF-R2 permet de réduire le phénomène d'angiogénèse en présence de VEGF exogène (Vascular Endothelial Growth Factor : facteur de croissance vasculaire endothérial) (Strawn *et al.*, *Cancer Research*, 1996, vol. 56, p.3540-3545). Ce processus a été démontré notamment à l'aide de mutants VEGF-R2 (Millauer *et al.*, *Cancer Research*, 1996, vol. 56, p.1615-1620). Le récepteur VEGF-R2 semble n'avoir aucune autre fonction chez l'adulte que celle liée à l'activité angiogénique du VEGF. Par conséquent, un inhibiteur sélectif de l'activité kinase du VEGF-R2 ne devrait démontrer que peu de toxicité.

En plus de ce rôle central dans le processus dynamique angiogénique, des résultats récents suggèrent que l'expression de VEGF contribue à la survie des cellules tumorales après des chimio- et radio-thérapies, soulignant la synergie potentielle d'inhibiteurs de KDR avec d'autres agents (Lee et al.
5 *Cancer Research*, 2000, vol. 60, p.5565-5570).

Partie expérimentale

Méthode A : Analyse par LC/MS

Les analyses LC/MS ont été réalisées sur un appareil Micromass modèle LCT relié à un appareil HP 1100. L'abondance des produits a été mesurée à
10 l'aide d'un détecteur à barrette de diodes HP G1315A sur une gamme d'onde de 200-600 nm et un détecteur à dispersion de lumière Sedex 65. L'acquisition des spectres de masses Mass spectra a été réalisée sur une gamme de 180 à 800. Les données ont été analysées en utilisant le logiciel Micromass MassLynx. La séparation a été effectuée sur une colonne Hypersil
15 BDS C18, 3 µm (50 x 4.6 mm), en éluant par un gradient linéaire de 5 à 90% d'acétonitrile contenant 0,05% (v/v) d'acide trifluoroacétique (TFA) dans l'eau contenant 0,05% (v/v) TFA en 3,5 mn à un débit de 1 mL/mn. Le temps total d'analyse, incluant la période de rééquilibration de la colonne, est de 7 mn.

Méthode B : Purification par LC/MS:

20 Les produits ont été purifiés par LC/MS en utilisant un système Waters FractionsLynx composé d'une pompe à gradient Waters modèle 600, d'une pompe de régénération Waters modèle 515, d'une pompe de dilution Waters Reagent Manager, d'un auto-injecteur Waters modèle 2700, de deux vannes Rheodyne modèle LabPro, d'un détecteur à barrette de diodes Waters modèle 996, d'un spectromètre de masse Waters modèle ZMD et d'un collecteur de fractions Gilson modèle 204. Le système étant contrôlé par le logiciel Waters FractionLynx. La séparation a été effectuée alternativement sur deux colonnes Waters Symmetry (C₁₈, 5µM, 19x50 mm, référence catalogue 186000210), une colonne étant en cours de régénération par un
25 mélange eau / acétonitrile 95/5 (v/v) contenant 0,07% (v/v) d'acide trifluoroacétique, pendant que l'autre colonne est en cours de séparation. L'élation des colonnes a été effectuée en utilisant un gradient linéaire de 5 à 95% d'acétonitrile contenant 0,07% (v/v) d'acide trifluoroacétique dans l'eau contenant 0,07% (v/v) d'acide trifluoroacétique, à un débit de 10 mL/mn. A la
30 sortie de la colonne de séparation, un millième de l'effluent est séparé par un
35

LC Packing Accurate, dilué à l'alcool méthylique à un débit de 0,5 mL/mn et envoyé vers les détecteurs, à raison de 75% vers le détecteur à barrette de diodes, et les 25% restants vers le spectromètre de masse. Le reste de l'effluent (999/1000) est envoyé vers le collecteur de fractions où le flux est éliminé tant que la masse du produit attendu n'est pas détectée par le logiciel FractionLynx. Les formules moléculaires des produits attendus sont fournies au logiciel FractionLynx qui déclenche la collecte du produit quand le signal de masse détecté correspond à l'ion $[M+H]^+$ et/ou au $[M+Na]^+$. Dans certains cas, dépendant des résultats de LC/MS analytique, quand un ion intense correspondant à $[M+2H]^{++}$ a été détecté, la valeur correspondant à la moitié de la masse moléculaire calculée ($MW/2$) est aussi fournie au logiciel FractionLynx. Dans ces conditions, la collecte est aussi déclenchée quand le signal de masse de l'ion $[M+2H]^{++}$ et/ou $[M+Na+H]^{++}$ sont détectés.

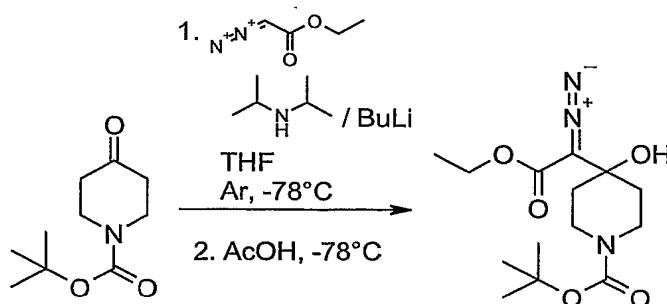
Méthode C : Analyse EI

Les spectres de masse ont été réalisés en impact électronique (70eV) sur spectromètre Finnigan SSQ 7000.

Méthode D : Analyse RMN

Les spectres RMN ont été réalisés sur spectromètre BRUKER Avance 300 et BRUKER Avance DRX 400.

20 4-(Diazo-éthoxycarbonyl-méthyl)-4-hydroxy-pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle



MW = 199.25

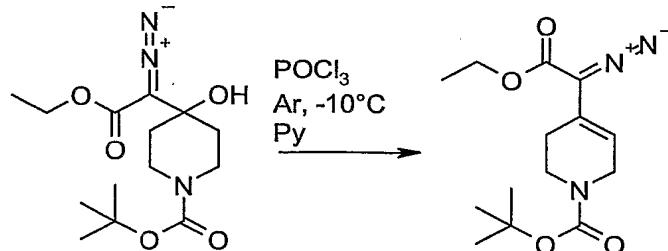
MW = 313.35

	CAS	Nom	d	MM	éq	mmol	g	mL
1	79099-07-3	N-Boc-piperidinone		199.25	1.00	50.19	10.00	
2	623-73-4	diazoacétate d'éthyle	1.085	114.1	1.05	52.70	6.01	5.54

3	109-72-8	BuLi 1,6 M hexane			1.60	80.30		50.19
4	108-18-9	di-isopropyl amine	0.720	101.19	1.60	80.30	8.13	11.29
5	109-99-9	THF sur tamis moléculaire 4Å			10 vol.			500
6	64-19-7	AcOH 100%	1.050	60.05	5.00	250.94	15.07	14.35

Une solution fraîchement préparée de LDA (préparé par addition goutte à goutte sous atmosphère inerte à -78°C de 50,19 mL de BuLi 1,6M dans l'hexane sur une solution de 11,29 mL de diisopropylamine dans 200 mL de THF sec) est ajoutée goutte à goutte sous atmosphère inerte à -78°C sur 5 10.0 g de N-Boc-pipéridinone en suspension et 5.54 mL de diazoacétate d'éthyle dans 300 mL de THF sec. Le mélange est agité à -78°C pendant 4 heures puis est décomposé à -78°C par 14,35 mL d'AcOH concentré. Le mélange obtenu est laissé à température ambiante pendant une nuit, puis le solvant est évaporé sous pression réduite jusqu'à 1/10^{ème} de son volume 10 initial, dilué dans de l'oxyde de diisopropyle, et lavé 4 fois avec une solution saturée de NaHCO₃. La phase organique est séchée sur MgSO₄. Le sel hydraté est éliminé par filtration et le filtrat sec est concentré sous pression réduite pour fournir 15,12g d'une huile visqueuse jaune. LC/MS: RT = 2.84 [M+1]⁺ = 304.33. Le produit est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

15 **4-(Diazo-éthoxycarbonyl-méthyl)- 3,6-dihydro-2H-pyridine -1-carboxylate de tert-butyle**



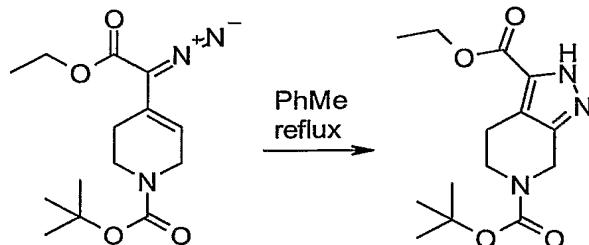
MW = 313.35

MW = 295.34

	CAS	Nom	d	MM	éq	mmol	g	mL
1		P-31391-106-4		313.35	1	48.25	15.12	
2	10025-87-3	POCl ₃	1.67	153.33	2	96.51	14.80	8.86
3	110-86-1	Pyridine (m.s. 4Å)	0.983	79.1	20	965.06	76.34	77.66
4	108-20-3	iPr ₂ O			5 vol			250
5	1310-73-2	NaOH 0.1M		40	1	48.25		483

78,0 mL de pyridine sèche sont ajoutés sur une solution de 15.12 g de 4-(Diazo-éthoxycarbonyl-méthyl)-4-hydroxy-pipéridine-1-carboxylate de tert-butyle dans 250 mL de iPr₂O. Le mélange est refroidi à -10°C et 8,86 mL de POCl₃ sont ajoutés lentement sous agitation vigoureuse. Le mélange est alors laissé remonter à température ambiante sous agitation pendant 12 heures. Le mélange réactionnel est décomposé par 500 mL d'une solution de NaOH 0.1M, puis est extraite 3 fois avec AcOEt. La phase organique est lavée avec une solution saturée de NaCl et séchée sur MgSO₄. Le sel hydraté est éliminé par filtration et le filtrat sec est concentré sous pression réduite jusqu'à 1/10^{ème} de son volume initial. LC/MS: RT = 4.57 [M+1]⁺ = 296.31. Le produit est utilisé tel quel pour l'étape suivante.

2,4,5,7-Tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridyl-3,6-dicarboxylate de 6-tert-butyle 3-éthyle.



MW = 295.34

MW = 295.34

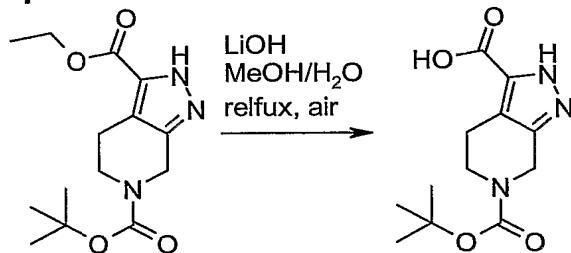
15

	CAS	Nom	d	MM	éq	mmol	mg	mL
1		P-31391-120-4		285.35	1.0	48.25		
2	108-83-3	PhMe						150

La solution de 4-(Diazo-éthoxycarbonyl-méthyl)- 3,6-dihydro-2H-pyridyl-1-carboxylate de tert-butyle dans Py/AcOEt obtenue à l'étape précédente est

additionnée goutte à goutte sur 150 mL de toluène au reflux. L'azéotrope Py/PhMe est distillé à une vitesse équivalente à la vitesse d'addition. 1 heure après la fin de l'addition, la solution est laissée refroidir à température ambiante, le solvant est évaporé sous pression réduite et le produit brut obtenu (15.05 g) est purifié par flash-chromatographie (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 1% NH₃ 7M_(MeOH) 40:1 puis 30:1 puis 20:1). Le solvant est évaporé et 10,05 g (71% sur 3 étapes) d'un solide noir sont obtenus : LC/MS: RT = 3.88 [M+1]⁺ = 296.27

Acide (2,4,5,7-Tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridyl-6-carboxylate de tert-butyle)-3-carboxylique



MW = 295.34

MW = 267.28

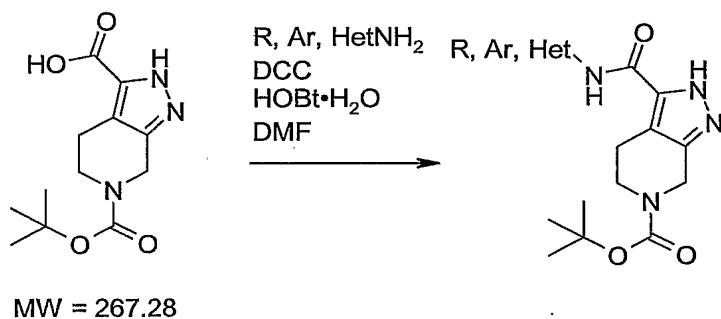
	CAS	Nom	d	MM	éq	mmol	g	mL
1		P-31391-123-1		295.34	1.0	34.03	10.05	
2	1310-66-3	LiOH•H ₂ O		41.96	1.1	37.43	1.57	
3	67-56-1	MeOH			10 vol.			375
4	7732-18-5	H ₂ O			1vol			38

1,57 g de LiOH et 38 mL d'eau sont ajoutés à une solution de 10,05 g de 2,4,5,7-Tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridyl-3,6-dicarboxylate de 6-tert-butyle 3-éthyle dans 375 mL de MeOH. Le mélange obtenu est chauffé au reflux pendant une nuit. La solution est refroidie à température ambiante, puis est acidifiée à pH = 2 avec 50 mL d'une solution de HCl 1M. La solution est ensuite extraite 4 fois par AcOEt. La phase organique est lavée par une solution saturée de NaCl puis séchée sur Na₂SO₄. Le sel obtenu est éliminé

par filtration, et le solvant est évaporé sous pression réduite pour produire 8,90g (98%) d'un solide blanc. LC/MS: RT = 3.21 [M+1]⁺ = 268.23.

Préparation d'une bibliothèque de produits :

- 5 **3-(alkylcarbamoyl, arylcarbamoyl, hétéroarylcarbamoyl, etc...)-2,4,5,7-tetrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle**



	CAS	Nom	d	MM	éq	mmol	g	mL
1		P-31391-031-5		267.28	1.0	3.741	1.00	
		amine			2.0	6.744		
2	538-75-0	DCC		206.33	1.0	3.741	0.772	
3	2592-95-2	HOBT·H ₂ O		153.13	1.5	5.612	0.859	
4	68-12-2	DMF			5 vol.			19

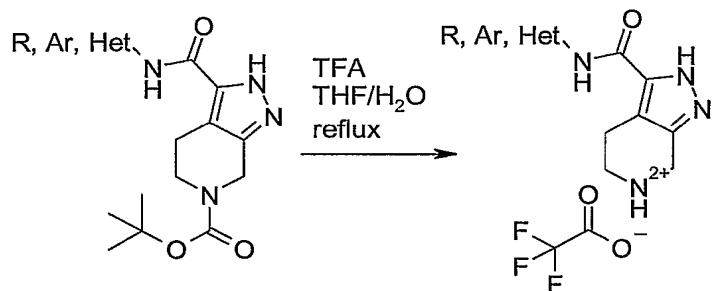
Méthode générale :

- Du DCC et de l'HOBT.H₂O en solution dans le DMF avec 2 éq. d'amine (R, Ar, ou Het)-NH₂ sont ajoutés à une solution de 1 éq. d'acide (2,4,5,7-tetrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridyl-6-carboxylate de tert-butyle)-3-carboxylique dans le DMF et le mélange est agité à température ambiante pendant 3h. Le solvant est évaporé sous pression réduite à 35°C pendant une nuit. Le produit brut obtenu est purifié par flash-chromatographie (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 1% NH₃ 7M_(MeOH) 20:1 puis 10:1 puis 5:1, en fonction des produits).
- 10 Tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridyl-6-carboxylate de tert-butyle dans le DMF et le mélange est agité à température ambiante pendant 3h. Le solvant est évaporé sous pression réduite à 35°C pendant une nuit. Le produit brut obtenu est purifié par flash-chromatographie (SiO₂, CH₂Cl₂/MeOH 1% NH₃ 7M_(MeOH) 20:1 puis 10:1 puis 5:1, en fonction des produits).
- 15 Liste des amines R1-NH₂ utilisées (Tableau 1) [Remarque : R1-NH₂ = (R, Ar, ou Het)-NH₂] :

Numéro de référence de l'amine	Structure
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	
13	
14	
15	

Tableau 1

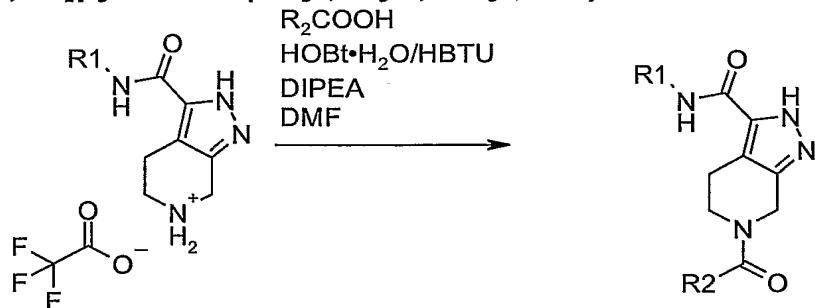
Trifluoroacétate de 3-(alkylcarbamoyl, arylcarbamoyl, hétéroarylcarbamoyl, etc...)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-i um



Méthode générale :

- 5 16 éq de TFA sont ajoutés sur 1 éq de 3-(alkylcarbamoyl, arylcarbamoyl, hétéroarylcarbamoyl, etc...)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle dans une solution 1 :1 THF/eau et la solution est chauffée au reflux pendant 2h. La solvant est évaporé sous pression réduite et l'huile visqueuse recueillie est séchés sous vide pendant une nuit. Le
10 produit ainsi obtenu est utilisé sans purification à l'étape ultérieure.

- **6-(Alkyl, aryl, hétéroaryl, etc...)carbonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-(alkyl, aryrl, hetyl, etc.)-amide**



Méthode générale :

- 15 Sur une solution de 1 éq. de trifluoroacétate de 3-(alkylcarbamoyl, arylcarbamoyl, hétéroarylcarbamoyl, etc...)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-i um dans le DMF sont ajoutés, dans l'ordre, une solution de HOBt•H₂O 2.5 M (2 éq.) dans le DMF, une solution de HBTU 0.833 M dans le DMF (2 éq.), une solution de DIPEA 2.5 M (4 éq.) dans le
20 DMF et une suspension ou une solution à une concentration appropriée d'un R₂COOH (2 éq.) dans le DMF. Les solutions sont agitées une nuit à température ambiante, puis sont acidifiées avec 100µL d'AcOH 100%, filtrées et purifiées par LC/MS préparative.

Liste des acides R₂COOH utilisés (tableau 2) :

Numéro de référence de l'acide	Nomenclature
1	Acide 1-phényl-1-cyclopropylcarboxylique
2	Acide acétique
3	Acide propiolique
4	Acide crotonique
5	Acide vinylacétique
6	Acide pyruvique
7	Sarcosine
8	Acide méthoxyacétique
9	Acide lactique
10	Acide 3,3-diméthylacrylique
11	Acide cyclopropylacétique
12	Acide valérique
13	N,N-diméthylglycine
14	Acide 3-mercaptopropionique
15	Acide (méthylthio)acétique
16	Acide pyrrole-2-carboxylique
17	Acide 1-cyanocyclopropane-carboxylique
18	Acide 2-furoïque
19	Acide 4-pyrazolecarboxylique
20	Acide imidazole-4-carboxylique
21	Acide 1-cyclopentènecarboxylique
22	Acide
23	Acide acétoxyacétique
24	Acide hydantoïque
25	Acide benzoïque
26	Acide nicotinique
27	Acide 2-pyrazinecarboxylique
28	Acide o-tolue
29	Acide phénylacétique
30	Acide salicylique
31	Acide 2-fluorobenzoïque
32	Acide 3-cyanobenzoïque

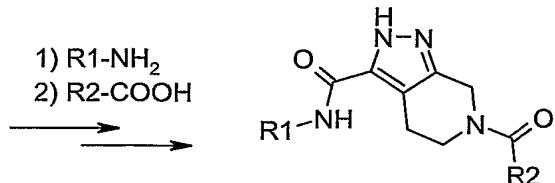
33	Acide 4-vinylbenzoïque
34	Acide 2-phénylpropionique
35	Acide N-méthylantranilique
36	Acide 2-méthoxybenzoïque
37	Acide 2-hydroxyphénylacétique
38	Acide 4-hydroxyméthylbenzoïque
39	Acide 2-fluorophénylbenzoïque
40	Acide 2,6-difluorobenzoïque
41	Acide indole-3-carboxylique
42	Acide 3,5-diméthylphénylacétique
43	Acide 3-(diméthylamino)benzoïque
44	Acide pipéronylique
45	Acide DL-tropique
46	Acide 3-méthoxyphénylacétique
47	Acide 3-méthoxysalicylique
48	Acide 4-(méthylthio)benzoïque
49	Acide 2-chlorophénylacétique
50	Acide 2-naphtoïque
51	Acide 2-chloro-6-fluorobenzoïque
52	Acide 1-méthylindole-3-carboxylique
53	Acide 3-acétamidobenzoïque
54	Acide 4-(diméthylamino)salicylique
55	Acide 2,3-diméthoxybenzoïque
56	Acide 4-chlorophénylpropionique
57	Acide 2-chloromandélique
58	Acide 2-chloro-6-fluoro-phénylacétique
59	Acide 1-phényl-1-cyclopentanecarboxylique
60	Acide 2,6-dichlorobenzoïque
61	Acide 3-méthyl-2-phénylvalérique
62	Acide 4-phénylbenzoïque
63	Acide 2-chloro-4-nitrobenzoïque
64	Acide 2-benzylbenzoïque
65	Acide 2-phénoxybenzoïque
66	Acide 2-éthoxy-1-naphtoïque
67	Acide 4-(4-N-propylphényle)-benzoïque

68	Acide 3,5-dibromosalicylique
69	Acide 2,6-dichloro-phénylacétique
70	Acide cyanoacétique

Tableau 2

Résultats

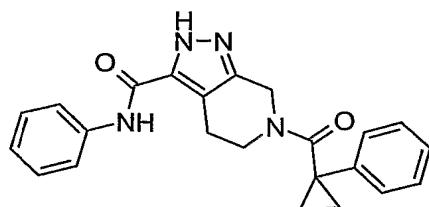
Les produits suivants sont préparés selon le procédé décrit plus haut.



5 Schéma A

Afin de simplifier la représentation des produits dans le tableau 3 qui suit, le noyau pyrazolopipridine présenté sur le schéma A est symbolisé par la lettre H, les amines R1-NH₂ qui sont liées à H sont symbolisées par la lettre B suivie d'un numéro allant de 1 à 15, correspondant aux produits listés dans le tableau 1, les acides R2-COOH qui sont liés à H sont symbolisés par la lettre A suivie d'un numéro de 1 à 70, correspondant aux produits listés dans le tableau 2.

Ainsi un produit noté A1-H-B1 correspond à la structure suivante :



A1-H-B1	A2-H-B1	A3-H-B1	A4-H-B1	A5-H-B1	A6-H-B1	A7-H-B1
A1-H-B2	A2-H-B2	A3-H-B2	A4-H-B2	A5-H-B2	A6-H-B2	A7-H-B2
A1-H-B3	A2-H-B3	A3-H-B3	A4-H-B3	A5-H-B3	A6-H-B3	A7-H-B3
A1-H-B4	A2-H-B4	A3-H-B4	A4-H-B4	A5-H-B4	A6-H-B4	A7-H-B4
A1-H-B5	A2-H-B5	A3-H-B5	A4-H-B5	A5-H-B5	A6-H-B5	A7-H-B5
A1-H-B6	A2-H-B6	A3-H-B6	A4-H-B6	A5-H-B6	A6-H-B6	A7-H-B6
A1-H-B7	A2-H-B7	A3-H-B7	A4-H-B7	A5-H-B7	A6-H-B7	A7-H-B7
A1-H-B8	A2-H-B8	A3-H-B8	A4-H-B8	A5-H-B8	A6-H-B8	A7-H-B8
A1-H-B9	A2-H-B9	A3-H-B9	A4-H-B9	A5-H-B9	A6-H-B9	A7-H-B9

A1-H-B10	A2-H-B10	A3-H-B10	A4-H-B10	A5-H-B10	A6-H-B10	A7-H-B10
A1-H-B11	A2-H-B11	A3-H-B11	A4-H-B11	A5-H-B11	A6-H-B11	A7-H-B11
A1-H-B12	A2-H-B12	A3-H-B12	A4-H-B12	A5-H-B12	A6-H-B12	A7-H-B12
A1-H-B13	A2-H-B13	A3-H-B13	A4-H-B13	A5-H-B13	A6-H-B13	A7-H-B13
A1-H-B14	A2-H-B14	A3-H-B14	A4-H-B14	A5-H-B14	A6-H-B14	A7-H-B14
A1-H-B15	A2-H-B15	A3-H-B15	A4-H-B15	A5-H-B15	A6-H-B15	A7-H-B15
A8-H-B1	A9-H-B1	A10-H-B1	A11-H-B1	A12-H-B1	A13-H-B1	A14-H-B1
A8-H-B2	A9-H-B2	A10-H-B2	A11-H-B2	A12-H-B2	A13-H-B2	A14-H-B2
A8-H-B3	A9-H-B3	A10-H-B3	A11-H-B3	A12-H-B3	A13-H-B3	A14-H-B3
A8-H-B4	A9-H-B4	A10-H-B4	A11-H-B4	A12-H-B4	A13-H-B4	A14-H-B4
A8-H-B5	A9-H-B5	A10-H-B5	A11-H-B5	A12-H-B5	A13-H-B5	A14-H-B5
A8-H-B6	A9-H-B6	A10-H-B6	A11-H-B6	A12-H-B6	A13-H-B6	A14-H-B6
A8-H-B7	A9-H-B7	A10-H-B7	A11-H-B7	A12-H-B7	A13-H-B7	A14-H-B7
A8-H-B8	A9-H-B8	A10-H-B8	A11-H-B8	A12-H-B8	A13-H-B8	A14-H-B8
A8-H-B9	A9-H-B9	A10-H-B9	A11-H-B9	A12-H-B9	A13-H-B9	A14-H-B9
A8-H-B10	A9-H-B10	A10-H-B10	A11-H-B10	A12-H-B10	A13-H-B10	A14-H-B10
A8-H-B11	A9-H-B11	A10-H-B11	A11-H-B11	A12-H-B11	A13-H-B11	A14-H-B11
A8-H-B12	A9-H-B12	A10-H-B12	A11-H-B12	A12-H-B12	A13-H-B12	A14-H-B12
A8-H-B13	A9-H-B13	A10-H-B13	A11-H-B13	A12-H-B13	A13-H-B13	A14-H-B13
A8-H-B14	A9-H-B14	A10-H-B14	A11-H-B14	A12-H-B14	A13-H-B14	A14-H-B14
A8-H-B15	A9-H-B15	A10-H-B15	A11-H-B15	A12-H-B15	A13-H-B15	A14-H-B15
A15-H-B1	A16-H-B1	A17-H-B1	A18-H-B1	A19-H-B1	A20-H-B1	A21-H-B1

A15-H-B2	A16-H-B2	A17-H-B2	A18-H-B2	A19-H-B2	A20-H-B2	A21-H-B2
A15-H-B3	A16-H-B3	A17-H-B3	A18-H-B3	A19-H-B3	A20-H-B3	A21-H-B3
A15-H-B4	A16-H-B4	A17-H-B4	A18-H-B4	A19-H-B4	A20-H-B4	A21-H-B4
A15-H-B5	A16-H-B5	A17-H-B5	A18-H-B5	A19-H-B5	A20-H-B5	A21-H-B5
A15-H-B6	A16-H-B6	A17-H-B6	A18-H-B6	A19-H-B6	A20-H-B6	A21-H-B6
A15-H-B7	A16-H-B7	A17-H-B7	A18-H-B7	A19-H-B7	A20-H-B7	A21-H-B7
A15-H-B8	A16-H-B8	A17-H-B8	A18-H-B8	A19-H-B8	A20-H-B8	A21-H-B8
A15-H-B9	A16-H-B9	A17-H-B9	A18-H-B9	A19-H-B9	A20-H-B9	A21-H-B9
A15-H-B10	A16-H-B10	A17-H-B10	A18-H-B10	A19-H-B10	A20-H-B10	A21-H-B10
A15-H-B11	A16-H-B11	A17-H-B11	A18-H-B11	A19-H-B11	A20-H-B11	A21-H-B11
A15-H-B12	A16-H-B12	A17-H-B12	A18-H-B12	A19-H-B12	A20-H-B12	A21-H-B12
A15-H-B13	A16-H-B13	A17-H-B13	A18-H-B13	A19-H-B13	A20-H-B13	A21-H-B13
A15-H-B14	A16-H-B14	A17-H-B14	A18-H-B14	A19-H-B14	A20-H-B14	A21-H-B14
A15-H-B15	A16-H-B15	A17-H-B15	A18-H-B15	A19-H-B15	A20-H-B15	A21-H-B15
A22-H-B1	A23-H-B1	A24-H-B1	A25-H-B1	A26-H-B1	A27-H-B1	A28-H-B1
A22-H-B2	A23-H-B2	A24-H-B2	A25-H-B2	A26-H-B2	A27-H-B2	A28-H-B2
A22-H-B3	A23-H-B3	A24-H-B3	A25-H-B3	A26-H-B3	A27-H-B3	A28-H-B3
A22-H-B4	A23-H-B4	A24-H-B4	A25-H-B4	A26-H-B4	A27-H-B4	A28-H-B4

A22-H-B5	A23-H-B5	A24-H-B5	A25-H-B5	A26-H-B5	A27-H-B5	A28-H-B5
A22-H-B6	A23-H-B6	A24-H-B6	A25-H-B6	A26-H-B6	A27-H-B6	A28-H-B6
A22-H-B7	A23-H-B7	A24-H-B7	A25-H-B7	A26-H-B7	A27-H-B7	A28-H-B7
A22-H-B8	A23-H-B8	A24-H-B8	A25-H-B8	A26-H-B8	A27-H-B8	A28-H-B8
A22-H-B9	A23-H-B9	A24-H-B9	A25-H-B9	A26-H-B9	A27-H-B9	A28-H-B9
A22-H-B10	A23-H-B10	A24-H-B10	A25-H-B10	A26-H-B10	A27-H-B10	A28-H-B10
A22-H-B11	A23-H-B11	A24-H-B11	A25-H-B11	A26-H-B11	A27-H-B11	A28-H-B11
A22-H-B12	A23-H-B12	A24-H-B12	A25-H-B12	A26-H-B12	A27-H-B12	A28-H-B12
A22-H-B13	A23-H-B13	A24-H-B13	A25-H-B13	A26-H-B13	A27-H-B13	A28-H-B13
A22-H-B14	A23-H-B14	A24-H-B14	A25-H-B14	A26-H-B14	A27-H-B14	A28-H-B14
A22-H-B15	A23-H-B15	A24-H-B15	A25-H-B15	A26-H-B15	A27-H-B15	A28-H-B15
A29-H-B1	A30-H-B1	A31-H-B1	A32-H-B1	A33-H-B1	A34-H-B1	A35-H-B1
A29-H-B2	A30-H-B2	A31-H-B2	A32-H-B2	A33-H-B2	A34-H-B2	A35-H-B2
A29-H-B3	A30-H-B3	A31-H-B3	A32-H-B3	A33-H-B3	A34-H-B3	A35-H-B3
A29-H-B4	A30-H-B4	A31-H-B4	A32-H-B4	A33-H-B4	A34-H-B4	A35-H-B4
A29-H-B5	A30-H-B5	A31-H-B5	A32-H-B5	A33-H-B5	A34-H-B5	A35-H-B5
A29-H-B6	A30-H-B6	A31-H-B6	A32-H-B6	A33-H-B6	A34-H-B6	A35-H-B6
A29-H-B7	A30-H-B7	A31-H-B7	A32-H-B7	A33-H-B7	A34-H-B7	A35-H-B7

A29-H-B8	A30-H-B8	A31-H-B8	A32-H-B8	A33-H-B8	A34-H-B8	A35-H-B8
A29-H-B9	A30-H-B9	A31-H-B9	A32-H-B9	A33-H-B9	A34-H-B9	A35-H-B9
A29-H-B10	A30-H-B10	A31-H-B10	A32-H-B10	A33-H-B10	A34-H-B10	A35-H-B10
A29-H-B11	A30-H-B11	A31-H-B11	A32-H-B11	A33-H-B11	A34-H-B11	A35-H-B11
A29-H-B12	A30-H-B12	A31-H-B12	A32-H-B12	A33-H-B12	A34-H-B12	A35-H-B12
A29-H-B13	A30-H-B13	A31-H-B13	A32-H-B13	A33-H-B13	A34-H-B13	A35-H-B13
A29-H-B14	A30-H-B14	A31-H-B14	A32-H-B14	A33-H-B14	A34-H-B14	A35-H-B14
A29-H-B15	A30-H-B15	A31-H-B15	A32-H-B15	A33-H-B15	A34-H-B15	A35-H-B15
A36-H-B1	A37-H-B1	A38-H-B1	A39-H-B1	A40-H-B1	A41-H-B1	A42-H-B1
A36-H-B2	A37-H-B2	A38-H-B2	A39-H-B2	A40-H-B2	A41-H-B2	A42-H-B2
A36-H-B3	A37-H-B3	A38-H-B3	A39-H-B3	A40-H-B3	A41-H-B3	A42-H-B3
A36-H-B4	A37-H-B4	A38-H-B4	A39-H-B4	A40-H-B4	A41-H-B4	A42-H-B4
A36-H-B5	A37-H-B5	A38-H-B5	A39-H-B5	A40-H-B5	A41-H-B5	A42-H-B5
A36-H-B6	A37-H-B6	A38-H-B6	A39-H-B6	A40-H-B6	A41-H-B6	A42-H-B6
A36-H-B7	A37-H-B7	A38-H-B7	A39-H-B7	A40-H-B7	A41-H-B7	A42-H-B7
A36-H-B8	A37-H-B8	A38-H-B8	A39-H-B8	A40-H-B8	A41-H-B8	A42-H-B8
A36-H-B9	A37-H-B9	A38-H-B9	A39-H-B9	A40-H-B9	A41-H-B9	A42-H-B9
A36-H-B10	A37-H-B10	A38-H-B10	A39-H-B10	A40-H-B10	A41-H-B10	A42-H-B10

A36-H-B11	A37-H-B11	A38-H-B11	A39-H-B11	A40-H-B11	A41-H-B11	A42-H-B11
A36-H-B12	A37-H-B12	A38-H-B12	A39-H-B12	A40-H-B12	A41-H-B12	A42-H-B12
A36-H-B13	A37-H-B13	A38-H-B13	A39-H-B13	A40-H-B13	A41-H-B13	A42-H-B13
A36-H-B14	A37-H-B14	A38-H-B14	A39-H-B14	A40-H-B14	A41-H-B14	A42-H-B14
A36-H-B15	A37-H-B15	A38-H-B15	A39-H-B15	A40-H-B15	A41-H-B15	A42-H-B15
A43-H-B1	A44-H-B1	A45-H-B1	A46-H-B1	A47-H-B1	A48-H-B1	A49-H-B1
A43-H-B2	A44-H-B2	A45-H-B2	A46-H-B2	A47-H-B2	A48-H-B2	A49-H-B2
A43-H-B3	A44-H-B3	A45-H-B3	A46-H-B3	A47-H-B3	A48-H-B3	A49-H-B3
A43-H-B4	A44-H-B4	A45-H-B4	A46-H-B4	A47-H-B4	A48-H-B4	A49-H-B4
A43-H-B5	A44-H-B5	A45-H-B5	A46-H-B5	A47-H-B5	A48-H-B5	A49-H-B5
A43-H-B6	A44-H-B6	A45-H-B6	A46-H-B6	A47-H-B6	A48-H-B6	A49-H-B6
A43-H-B7	A44-H-B7	A45-H-B7	A46-H-B7	A47-H-B7	A48-H-B7	A49-H-B7
A43-H-B8	A44-H-B8	A45-H-B8	A46-H-B8	A47-H-B8	A48-H-B8	A49-H-B8
A43-H-B9	A44-H-B9	A45-H-B9	A46-H-B9	A47-H-B9	A48-H-B9	A49-H-B9
A43-H-B10	A44-H-B10	A45-H-B10	A46-H-B10	A47-H-B10	A48-H-B10	A49-H-B10
A43-H-B11	A44-H-B11	A45-H-B11	A46-H-B11	A47-H-B11	A48-H-B11	A49-H-B11
A43-H-B12	A44-H-B12	A45-H-B12	A46-H-B12	A47-H-B12	A48-H-B12	A49-H-B12
A43-H-B13	A44-H-B13	A45-H-B13	A46-H-B13	A47-H-B13	A48-H-B13	A49-H-B13

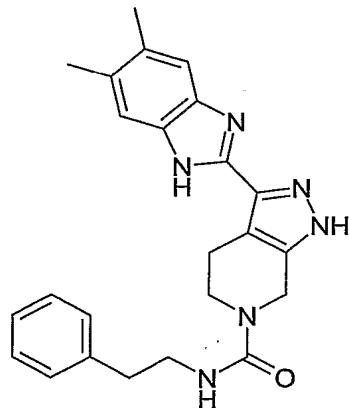
A43-H-B14	A44-H-B14	A45-H-B14	A46-H-B14	A47-H-B14	A48-H-B14	A49-H-B14
A43-H-B15	A44-H-B15	A45-H-B15	A46-H-B15	A47-H-B15	A48-H-B15	A49-H-B15
A50-H-B1	A51-H-B1	A52-H-B1	A53-H-B1	A54-H-B1	A55-H-B1	A56-H-B1
A50-H-B2	A51-H-B2	A52-H-B2	A53-H-B2	A54-H-B2	A55-H-B2	A56-H-B2
A50-H-B3	A51-H-B3	A52-H-B3	A53-H-B3	A54-H-B3	A55-H-B3	A56-H-B3
A50-H-B4	A51-H-B4	A52-H-B4	A53-H-B4	A54-H-B4	A55-H-B4	A56-H-B4
A50-H-B5	A51-H-B5	A52-H-B5	A53-H-B5	A54-H-B5	A55-H-B5	A56-H-B5
A50-H-B6	A51-H-B6	A52-H-B6	A53-H-B6	A54-H-B6	A55-H-B6	A56-H-B6
A50-H-B7	A51-H-B7	A52-H-B7	A53-H-B7	A54-H-B7	A55-H-B7	A56-H-B7
A50-H-B8	A51-H-B8	A52-H-B8	A53-H-B8	A54-H-B8	A55-H-B8	A56-H-B8
A50-H-B9	A51-H-B9	A52-H-B9	A53-H-B9	A54-H-B9	A55-H-B9	A56-H-B9
A50-H-B10	A51-H-B10	A52-H-B10	A53-H-B10	A54-H-B10	A55-H-B10	A56-H-B10
A50-H-B11	A51-H-B11	A52-H-B11	A53-H-B11	A54-H-B11	A55-H-B11	A56-H-B11
A50-H-B12	A51-H-B12	A52-H-B12	A53-H-B12	A54-H-B12	A55-H-B12	A56-H-B12
A50-H-B13	A51-H-B13	A52-H-B13	A53-H-B13	A54-H-B13	A55-H-B13	A56-H-B13
A50-H-B14	A51-H-B14	A52-H-B14	A53-H-B14	A54-H-B14	A55-H-B14	A56-H-B14
A50-H-B15	A51-H-B15	A52-H-B15	A53-H-B15	A54-H-B15	A55-H-B15	A56-H-B15
A57-H-B1	A58-H-B1	A59-H-B1	A60-H-B1	A61-H-B1	A62-H-B1	A63-H-B1

A57-H-B2	A58-H-B2	A59-H-B2	A60-H-B2	A61-H-B2	A62-H-B2	A63-H-B2
A57-H-B3	A58-H-B3	A59-H-B3	A60-H-B3	A61-H-B3	A62-H-B3	A63-H-B3
A57-H-B4	A58-H-B4	A59-H-B4	A60-H-B4	A61-H-B4	A62-H-B4	A63-H-B4
A57-H-B5	A58-H-B5	A59-H-B5	A60-H-B5	A61-H-B5	A62-H-B5	A63-H-B5
A57-H-B6	A58-H-B6	A59-H-B6	A60-H-B6	A61-H-B6	A62-H-B6	A63-H-B6
A57-H-B7	A58-H-B7	A59-H-B7	A60-H-B7	A61-H-B7	A62-H-B7	A63-H-B7
A57-H-B8	A58-H-B8	A59-H-B8	A60-H-B8	A61-H-B8	A62-H-B8	A63-H-B8
A57-H-B9	A58-H-B9	A59-H-B9	A60-H-B9	A61-H-B9	A62-H-B9	A63-H-B9
A57-H-B10	A58-H-B10	A59-H-B10	A60-H-B10	A61-H-B10	A62-H-B10	A63-H-B10
A57-H-B11	A58-H-B11	A59-H-B11	A60-H-B11	A61-H-B11	A62-H-B11	A63-H-B11
A57-H-B12	A58-H-B12	A59-H-B12	A60-H-B12	A61-H-B12	A62-H-B12	A63-H-B12
A57-H-B13	A58-H-B13	A59-H-B13	A60-H-B13	A61-H-B13	A62-H-B13	A63-H-B13
A57-H-B14	A58-H-B14	A59-H-B14	A60-H-B14	A61-H-B14	A62-H-B14	A63-H-B14
A57-H-B15	A58-H-B15	A59-H-B15	A60-H-B15	A61-H-B15	A62-H-B15	A63-H-B15
A64-H-B1	A65-H-B1	A66-H-B1	A67-H-B1	A68-H-B1	A69-H-B1	A70-H-B1
A64-H-B2	A65-H-B2	A66-H-B2	A67-H-B2	A68-H-B2	A69-H-B2	A70-H-B2
A64-H-B3	A65-H-B3	A66-H-B3	A67-H-B3	A68-H-B3	A69-H-B3	A70-H-B3
A64-H-B4	A65-H-B4	A66-H-B4	A67-H-B4	A68-H-B4	A69-H-B4	A70-H-B4

A64-H-B5	A65-H-B5	A66-H-B5	A67-H-B5	A68-H-B5	A69-H-B5	A70-H-B5
A64-H-B6	A65-H-B6	A66-H-B6	A67-H-B6	A68-H-B6	A69-H-B6	A70-H-B6
A64-H-B7	A65-H-B7	A66-H-B7	A67-H-B7	A68-H-B7	A69-H-B7	A70-H-B7
A64-H-B8	A65-H-B8	A66-H-B8	A67-H-B8	A68-H-B8	A69-H-B8	A70-H-B8
A64-H-B9	A65-H-B9	A66-H-B9	A67-H-B9	A68-H-B9	A69-H-B9	A70-H-B9
A64-H-B10	A65-H-B10	A66-H-B10	A67-H-B10	A68-H-B10	A69-H-B10	A70-H-B10
A64-H-B11	A65-H-B11	A66-H-B11	A67-H-B11	A68-H-B11	A69-H-B11	A70-H-B11
A64-H-B12	A65-H-B12	A66-H-B12	A67-H-B12	A68-H-B12	A69-H-B12	A70-H-B12
A64-H-B13	A65-H-B13	A66-H-B13	A67-H-B13	A68-H-B13	A69-H-B13	A70-H-B13
A64-H-B14	A65-H-B14	A66-H-B14	A67-H-B14	A68-H-B14	A69-H-B14	A70-H-B14
A64-H-B15	A65-H-B15	A66-H-B15	A67-H-B15	A68-H-B15	A69-H-B15	A70-H-B15

Tableau 3

Exemple 1 : 2-phényléthylamide de l'acide 3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique



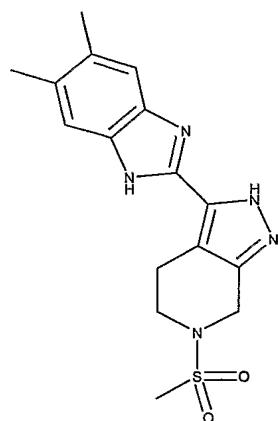
Le 2-phényléthylamide de l'acide 3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique peut être préparé de la façon suivante :

10 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo [3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 0.3 mL de tétrahydrofurane. 7.8 µL de 2-phényléthylisocyanate sont additionnés et le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures puis concentré sous pression réduite.

Le résidu d'évaporation est purifié par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant le 2-phényléthylamide de l'acide 3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique sont réunies et déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 1.2 mg de 2-phényléthylamide de l'acide 3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :

LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 415.29 ; temps de rétention = 3.48 minutes

Exemple 2 : 3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-méthanesulfonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine



La 3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-méthanesulfonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparée de la façon suivante :

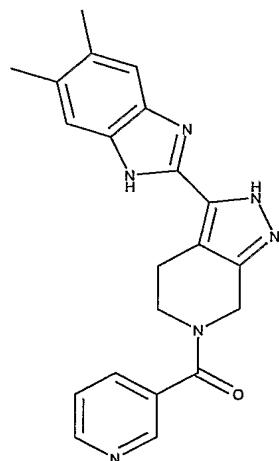
10 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 0.3 mL de dichlorométhane. 15.8 µL de triéthylamine sont additionnés ainsi que 4.5 µL de chlorure de méthanesulfonyle. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures puis concentré sous pression réduite.

Le résidu d'évaporation est purifié par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-méthanesulfonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont réunies et déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 4.2 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-méthanesulfonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :

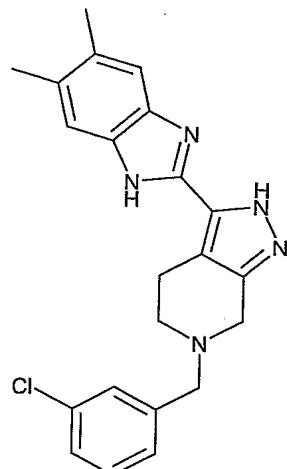
LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 346.30 ; temps de rétention = 3.08 minutes

R.M.N. ^1H (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, δ en ppm) : 2,32 (s large : 6H) ; 3,02 (s : 3H) ; 3,03 (mt : 2H) ; 3,52 (t large, $J = 5$ Hz : 2H) ; 4,45 (s large : 2H) ; 7,24 (s large : 1H) ; 7,42 (s large : 1H) ; 12,45 (mf : 1H) ; 13,07 (mf : 1H).

Exemple 3 : [3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone



- La [3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone peut être préparée de la façon suivante : 10 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 0.3 mL de DMF. 6.9 mg d'acide nicotinique sont additionnés, suivis de 7.6 mg de HOBT et 8.7 μ L de diisopropylcarbodiimide. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures puis concentré sous pression réduite.
- Le résidu d'évaporation est purifié par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant la [3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone sont réunies et déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 5.3 mg de [3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :
- LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 373.31 ; temps de rétention = 2.87 minutes
- R.M.N. 1 H (400 MHz, $(CD_3)_2SO$, à une température de 373K, δ en ppm) : 2,35 (s : 6H) ; de 2,90 à 3,10 (mt : 2H) ; 3,76 (mf : 2H) ; 4,76 (s large : 2H) ; 7,27 (mf : 1H) ; 7,40 (mf : 1H) ; 7,51 (dd, J = 8 et 5 Hz : 1H) ; 7,90 (d large, J = 8 Hz : 1H) ; 8,70 (mt : 2H) ; de 11,80 à 12,20 (mf étalé : 1H) ; de 12,50 à 13,00 (mf étalé : 1H).
- Exemple 4 : 6-(3-Chloro-benzyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine

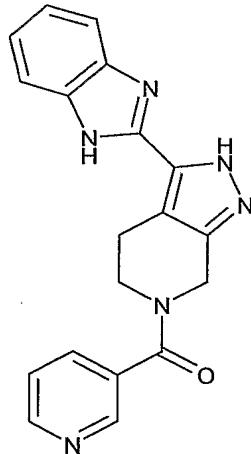


La 6-(3-chloro-benzyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparée de la façon suivante :

- 5 10 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 0.3 mL de méthanol. 12.7 µL de 3-chlorobenzaldéhyde sont additionnés, suivis de 4.7 mg de NaBH₃CN. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures puis concentré sous pression réduite.
- 10 Le résidu d'évaporation est purifié par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant la 6-(3-chloro-benzyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont réunies et déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 4 mg de 6-(3-chloro-benzyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :
- 15 R.M.N. ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO, à une température de 373K, δ en ppm) : 2,35 et 2,36 (2 s : 6H en totalité) ; 2,83 (t, J = 5,5 Hz : 2H) ; de 2,90 à 3,00 (mt : 2H) ; 3,62 (s large : 2H) ; 3,78 (s : 2H) ; de 7,25 à 7,50 (mt : 6H) ; 11,91 (mf : 1H) ; de 12,30 à 12,60 (mf étalé : 1H).

R.M.N. ¹H (400 MHz, (CD₃)₂SO, à une température de 373K, δ en ppm) : 2,35 et 2,36 (2 s : 6H en totalité) ; 2,83 (t, J = 5,5 Hz : 2H) ; de 2,90 à 3,00 (mt : 2H) ; 3,62 (s large : 2H) ; 3,78 (s : 2H) ; de 7,25 à 7,50 (mt : 6H) ; 11,91 (mf : 1H) ; de 12,30 à 12,60 (mf étalé : 1H).

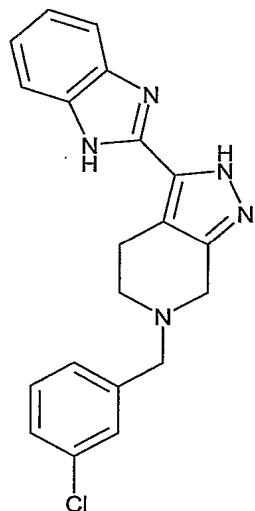
Exemple 5 : [3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone



- La [3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone peut être préparée de la façon suivante :
- 5 15 mg de chlorhydrate de la 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 0.5 mL de DMF. 24.3 mg de diisopropyléthylamine sont additionnés, suivis de 12.7 mg de HOBT, 11.9 mg de diisopropylcarbodiimide et de 11.6 mg d'acide nicotinique.
- 10 Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures puis concentré sous pression réduite.
- Le résidu d'évaporation est purifié par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant la [3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone sont réunies et
- 15 déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 7.7 mg de [3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-pyridinyl-méthanone sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :
- 20 LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 345.22 ; temps de rétention = 1.95 minutes

Exemple 6 : 6-(3-Chloro-benzyl)-3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine

25

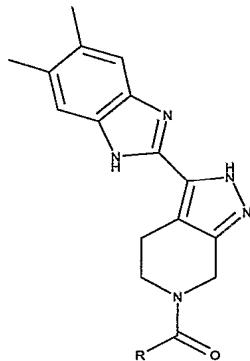


La 6-(3-chloro-benzyl)-3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparée de la façon suivante :

15 mg de chlorhydrate de la 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 0.5 mL de méthanol. 5 26.5 mg de 3-chlorobenzaldéhyde sont additionnés, suivis de 7.9 mg de NaBH₃CN. Le mélange réactionnel est agité à température ambiante pendant 20 heures puis concentré sous pression réduite.

Le résidu d'évaporation est purifié par LC/MS (Méthode B). Après purification 10 par LC/MS, les fractions contenant la 6-(3-chloro-benzyl)-3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont réunies et déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue 15 est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 6.9 mg de 6-(3-chloro-benzyl)-3-(1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :

LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 364.22 ; temps de rétention = 20 2.19 minutes

Exemple 7 : Préparation d'une librairie d'amide

La librairie d'amides peut être préparée de la façon suivante :

Les 19 acides (tableau 4) sont pesés et placés dans 19 tubes à essais individuels.

Tableau 4 : acides utilisés

Entrée	Nom	Quantité
1	ACIDE ISOBUTYRIQUE	3.3 mg
2	ACIDE BENZOIQUE	4.6 mg
3	ACIDE 2,3-DICHLOROBENZOIQUE	7.1 mg
4	ACIDE PHENYLACETIQUE	5.1 mg
5	ACIDE ACETIQUE	2.2 mg
6	ACIDE CYCLOPROPANECARBOXYLIQUE	3.2 mg
7	ACIDE 2-CHLOROBENZOIQUE	5.9 mg
8	ACIDE 3-CHLOROBENZOIQUE	5.9 mg
9	ACIDE 4-CHLOROBENZOIQUE	5.9 mg
10	ACIDE ISOVALERIQUE	3.8 mg
11	ACIDE HYDROCINNAMIQUE	5.6 mg
12	ACIDE VINYLACETIQUE	3.2 mg
13	ACIDE BUTYRIQUE	3.3 mg
14	ACIDE 2-FUROIQUE	4.2 mg
15	ACIDE PIVALIQUE	3.8 mg

16	N,N-DIMETHYLGlycine	3.9 mg
17	ACIDE VALERIQUE	3.8 mg
18	ACIDE THIOPHENE-2-CARBOXYLIQUE	4.8 mg
19	ACIDE 4-METHYLSULFONYLBENZOIQUE	7.5 mg

152 mg de HOBT et 142 mg de diisopropylcarbodiimide sont placés en solution dans 12 mL de DMF et la solution obtenue est distribuée dans chacun des 19 tubes à essais, à raison de 600 µL par tube.

5 200 mg de chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 4 mL de DMF en présence de 290 mg de N,N-diisopropyléthylamine et la suspension obtenue est distribuée dans chacun des 19 tubes à essais, à raison de 200 µL par tube.

10 Les 19 mélanges réactionnels sont agités par agitation orbitalaire à température ambiante pendant 20 heures.

Pour chaque mélange réactionnel, un prélèvement de 10 µL est effectué et dilué dans 40 µL de DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque échantillon en solution dans le DMSO ainsi obtenu, est analysé par LC/MS (Méthode A).

15 Les 19 mélanges réactionnels sont ensuite évaporés à sec et les résidus d'évaporation sont placés en solution dans 500 µL de DMSO chacun, puis les solutions obtenues sont purifiées par LC/MS (Méthode B).

Après purification par LC/MS, les fractions contenant les composés cherchés sont (éventuellement réunies) déposées sur phase SCX (500 mg de phase

20 CUBCX1-HL). Les phases SCX sont ensuite lavées avec du méthanol puis extraites avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. Les solutions d'extraction sont collectées en tubes de verre tarés, évaporées à sec (évaporateur centrifuge Savant AES 2000 ou Genevac HT8), pesées (Mettler Toledo Automated Workstation LA200) et diluées à 10 mM dans le DMSO

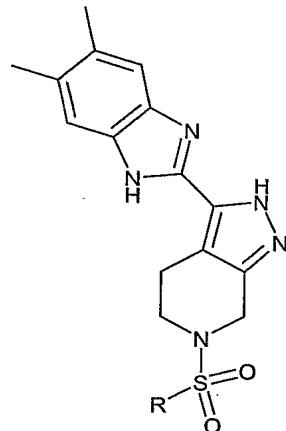
25 (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque solution obtenue est analysée par LC/MS (Méthode A).

Les composés suivants (Tableau 5), ont été isolés et caractérisés par leur temps de rétention et pic moléculaire en Spectrométrie de Masse (Méthode A).

Tableau 5 : librairie d'amides obtenue

Entrée	Nom	Quantité de produit obtenu	Temps de rétention (minutes)	Ion moléculaire détecté
1	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-2-méthyl-propan-1-one	5.8 mg	3.08	338.23
2	[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-phényl-méthanone	6.8 mg	2.68	372.21
3	(2,3-Dichloro-phényl)-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-méthanone	12 mg	3.05	440.13
4	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-2-phényl-éthanone	7.9 mg	2.99	386.23
5	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-éthanone	2.7 mg	2.4	310.19
6	Cyclopropyl-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-méthanone	3.4 mg	2.57	336.21
7	(2-Chloro-phényl)-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-méthanone	11.2 mg	2.97	406.18
8	(3-Chloro-phényl)-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-méthanone	12.1 mg	3.31	406.16
9	(4-Chloro-phényl)-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-méthanone	11.5 mg	3.51	406.17
10	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-méthyl-butan-1-one	4.8 mg	2.72	352.24

11	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-3-phényl-propan-1-one	11.9 mg	2.95	400.24
12	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-but-3-en-1-one	10.1 mg	2.72	336.22
13	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-butan-1-one	7 mg	2.66	338.23
14	[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-furan-2-yl-méthanone	9.5 mg	2.67	362.19
15	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-2,2-diméthyl-propan-1-one	9.3 mg	2.8	352.24
16	2-Diméthylamino-1-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-éthanone	4.7 mg	2.55	353.23
17	1-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pentan-1-one	5.4 mg	2.78	352.24
18	[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-thiophen-2-yl-méthanone	7.2 mg	2.75	378.17
19	[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-(4-méthanesulfonyl-phényl)-méthanone	14.3 mg	2.79	450.19

Exemple 8 : Préparation d'une librairie de sulfonamides

La librairie de sulfonamides peut être préparée de la façon suivante :

- 190 mg de chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 2 mL de dichlorométhane en présence de 150 μL de triéthylamine et la suspension obtenue est distribuée dans 17 tubes à essais, à raison de 500 μL par tube.
 5 Les 17 chlorures de sulfonyles (tableau 6) sont pesés et additionnés dans chacun des 17 tubes à essais.

10 Tableau 6 : Chlorures de sulfonyle utilisés

Entrée	Nom	Quantité
1	CHLORURE DE BENZENESULFONYLE	9.9 mg
2	CHLORURE DE ALPHA-TOLUENESULFONYLE	10.7 mg
3	CHLORURE DE 2,3-DICHLOROBENZENESULFONYLE	13.8 mg
4	CHLORURE DE 4-CHLOROBENZENESULFONYLE	11.9 mg
5	CHLORURE DE 2,2,2-TRIFLUOROETHANESULFONYLE	10.2 mg
6	CHLORURE DE ETHANESULFONYLE	7.2 mg
7	CHLORURE DE 1-PROPANESULFONYLE	8 mg
8	CHLORURE DE 1-BUTANESULFONYLE	8.8 mg
9	CHLORURE DE 2-CHLOROBENZENESULFONYLE	11.9 mg
10	CHLORURE DE 3-CHLOROBENZENESULFONYLE	11.9 mg

11	CHLORURE DE [(4-FLUOROPHENYL)METHYL]SULFONYLE	11.7 mg
12	CHLORURE DE 4-METHOXYBENZENESULFONYLE	11.6 mg
13	CHLORURE DE P-TOLUENESULFONYLE	10.7 mg
14	CHLORURE DE O-TOLUENESULFONYLE	10.7 mg
15	CHLORURE DE 3-METHYLBENZENESULFONYLE	10.7 mg
16	CHLORURE DE 3-METHOXYBENZENESULPHONYLE	11.6 mg
17	CHLORURE DE 2-METHOXY-4-METHYLBENZENESULPHONYLE	12.4 mg

Les 17 mélanges réactionnels sont agités par agitation orbitalaire à température ambiante pendant 20h.

Pour chaque mélange réactionnel, un prélèvement de 10 µL est effectué et dilué dans 40 µL de DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque 5 échantillon en solution dans le DMSO ainsi obtenu, est analysé par LC/MS (Méthode A).

Les 17 mélanges réactionnels sont ensuite évaporés à sec et les résidus d'évaporation sont placés en solution dans 1 mL de DMSO chacun en présence d'une goutte d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 5N et les 10 solutions obtenues sont purifiées par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant les composés cherchés sont (éventuellement réunies) déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). Les phases SCX sont ensuite lavées avec du méthanol puis extraites avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. Les solutions 15 d'extraction sont collectées en tubes de verre tarés, évaporées à sec (évaporateur centrifuge Savant AES 2000 ou Genevac HT8), pesées (Mettler Toledo Automated Workstation LA200) et diluées à 10 mM dans le DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque solution obtenue est analysée par LC/MS (Méthode A).

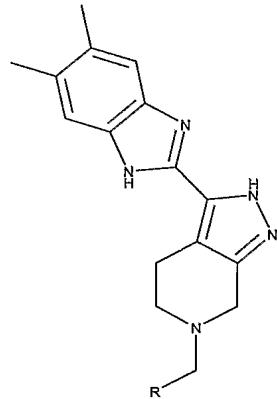
20 Les composés suivants (Tableau 7), ont été isolés et caractérisés par leur temps de rétention et pic moléculaire en Spectrométrie de Masse (Méthode A).

Tableau 7 : librairie de sulfonamides obtenue

Entrée	Nom	Quantité de produit obtenue	Temps de rétention (minutes)	Ion moléculaire détecté
1	6-Benzenesulfonyl-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	1.4 mg	3.41	408.18
2	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-phénylethanesulfonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	0.7 mg	3.51	422.2
3	6-(2,3-Dichloro-benzenesulfonyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	6.4 mg	3.25	476.1
4	6-(4-Chloro-benzenesulfonyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.9 mg	3.19	442.12
5	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(2,2,2-trifluoro-éthanesulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	1.7 mg	3.06	414.14
6	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-éthanesulfonyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.2 mg	2.63	360.17
7	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(propane-1-sulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	4.3 mg	2.8	374.19
8	6-(Butane-1-sulfonyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.6 mg	2.94	388.2
9	6-(2-Chloro-benzenesulfonyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.6 mg	3.38	442.13
10	6-(3-Chloro-benzenesulfonyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	6.9 mg	3.71	442.13
11	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(4-fluoro-phénylethanesulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	0.7 mg	3.05	440.18
12	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(4-methoxy-benzenesulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	7.5 mg	2.99	438.19

13	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(toluene-4-sulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	7.3 mg	3.22	422.2
14	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(toluene-2-sulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	4.8 mg	3.16	422.19
15	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(toluene-3-sulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.1 mg	3.13	422.19
16	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(3-methoxy-benzenesulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	6.9 mg	3.07	438.18
17	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(2-methoxy-4-méthyl-benzenesulfonyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	0.8 mg	3.34	452.19

Exemple 9 : Préparation d'une librairie d'amines



La librairie d'amines peut être préparée de la façon suivante :

180 mg de chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 2.7 mL de méthanol et la suspension obtenue est distribuée dans 16 tubes à essais, à raison de 150 µL par tube.

Les 16 aldéhydes (tableau 8) sont pesés et additionnés dans chacun des 16 tubes à essais.

Tableau 8 : Aldéhydes utilisés

Entrée	Nom	Quantité
1	ISOBUTYRALDEHYDE	8.1 mg
2	FORMALDEHYDE	3.4 mg
3	BENZALDEHYDE	11.9 mg
4	PHENYLACETALDEHYDE	13.5 mg
5	2,3-DICHLOROBENZALDEHYDE	19.6 mg
6	FURFURAL	10.8 mg
7	4-CHLOROBENZALDEHYDE	15.8 mg
8	2-THIOPHENECARBOXALDEHYDE	12.6 mg
9	NICOTINALDEHYDE	12 mg
10	TRIMETHYLACETALDEHYDE	9.7 mg
11	ACETALDEHYDE	4.9 mg
12	ISOVALERALDEHYDE	9.7 mg
13	PROPIONALDEHYDE	6.5 mg
14	3-PHENYLPROPIONALDEHYDE	15.1 mg
15	BUTYRALDEHYDE	8.1 mg
16	CYCLOPROPANE CARBOXALDEHYDE	7.9 mg

Une solution de 85 mg de NaBH₃CN dans 2.7 mL de méthanol est alors également distribuée dans les 16 tubes à essais, à raison de 150 µL par tube. Les 16 mélanges réactionnels sont agités par agitation orbitalaire à température ambiante pendant 20h. 100 µL de méthanol sont alors ajoutés dans chacun des 16 tubes.

Pour chaque mélange réactionnel, un prélèvement de 10 µL est effectué et dilué dans 40 µL de DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque échantillon en solution dans le DMSO ainsi obtenu, est analysé par LC/MS (Méthode A).

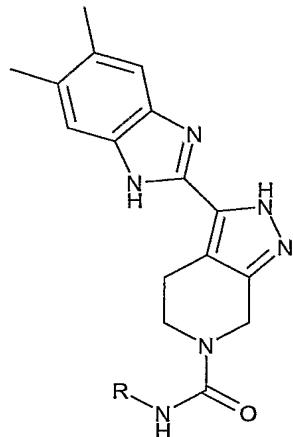
Les 16 mélanges réactionnels sont ensuite évaporés à sec et les résidus d'évaporation sont placés en solution dans 500 µL de DMSO chacun, filtrés sur fritté, puis les solutions résiduelles sont purifiées par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant les composés cherchés sont (éventuellement réunies) déposées sur phase SCX (500 mg de phase

- CUBCX1-HL). Les phases SCX sont ensuite lavées avec du méthanol puis extraites avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. Les solutions d'extraction sont collectées en tubes de verre tarés, évaporées à sec (évaporateur centrifuge Savant AES 2000 ou Genevac HT8), pesées (Mettler Toledo Automated Workstation LA200) et diluées à 10 mM dans le DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque solution obtenue est analysée par LC/MS (Méthode A).
- Les composés suivants (Tableau 9), ont été isolés et caractérisés par leur temps de rétention et pic moléculaire en Spectrométrie de Masse (Méthode A).

Tableau 9 : librairie d'amines obtenue

Entrée	Nom	Quantité de produit obtenue	Temps de rétention (minutes)	Ion moléculaire détecté
1	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-isobutyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.9 mg	2.62	324.32
2	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-méthyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	3.5 mg	2.49	282.29
3	6-Benzyl-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	8.2 mg	2.74	358.3
4	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-phenéthyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	6.4 mg	2.84	372.32
5	6-(2,3-Dichloro-benzyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	8.6 mg	2.95	426.23
6	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-furan-2-ylméthyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.9 mg	2.64	348.27
7	6-(4-Chloro-benzyl)-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	4.7 mg	2.9	392.26

8	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-thiophen-2-ylméthyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	8.4 mg	2.71	364.24
9	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-pyridin-3-ylméthyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	11.7 mg	2.55	359.29
10	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(2,2-diméthyl-propyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	3.7 mg	2.72	338.32
11	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-éthyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5 mg	2.55	296.27
12	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(3-méthyl-butyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	5.9 mg	2.76	338.3
13	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-propyl-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	6.4 mg	2.62	310.29
14	3-(5,6-Diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-6-(3-phényl-propyl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	4.2 mg	2.97	386.31
15	6-Butyl-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	4.5 mg	2.68	324.28
16	6-Cyclopropylméthyl-3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine	3.9 mg	2.62	322.27

Exemple 10 : Préparation d'une librairie d'urées

La librairie d'urées peut être préparée de la façon suivante :

- 120 mg de chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sont mis en suspension dans 3.6 mL de tétrahydrofurane en présence de 190 μL de triéthylamine et la suspension obtenue est distribuée dans chacun des 9 tubes à essais, à raison de 300 μL par tube.
- Les 9 isocyanates (tableau 10) sont pesés et additionnés dans chacun des 9 tubes à essais.

Tableau 10 : Isocyanates utilisés

Entrée	Nom	Quantité
1	PHENYL ISOCYANATE	6.7 mg
2	BENZYL ISOCYANATE	7.5 mg
3	2-CHLOROPHENYL ISOCYANATE	8.6 mg
4	3-CHLOROPHENYL ISOCYANATE	8.6 mg
5	4-CHLOROPHENYL ISOCYANATE	8.6 mg
6	N-BUTYL ISOCYANATE	5.6 mg
7	2-THIENYL ISOCYANATE	7 mg
8	2-METHOXYPHENYL ISOCYANATE	8.4 mg
9	O-TOLYL ISOCYANATE	7.5 mg

Les 9 mélanges réactionnels sont agités par agitation orbitalaire à température ambiante pendant 2 heures puis évaporés à sec.

Les résidus d'évaporation sont placés en solution dans 1 mL de DMSO chacun et pour chaque solution obtenue, un prélèvement de 10 µL est effectué et dilué dans 40 µL de DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque échantillon en solution dans le DMSO ainsi obtenu, est analysé par LC/MS (Méthode A).

Les solutions résiduelles sont purifiées par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant les composés cherchés sont (éventuellement réunies) soit évaporées à sec (entrées 1, 3, 6, 8, 9), soit déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL ; entrées 2, 4, 5, 7). Les phases SCX sont ensuite lavées avec du méthanol puis extraites avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. Les solutions d'extraction sont collectées en tubes de verre tarés, évaporées à sec (évaporateur centrifuge Savant AES 2000 ou Genevac HT8), pesées (Mettler Toledo Automated Workstation LA200) et diluées à 10 mM dans le DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque solution obtenue est analysée par LC/MS (Méthode A).

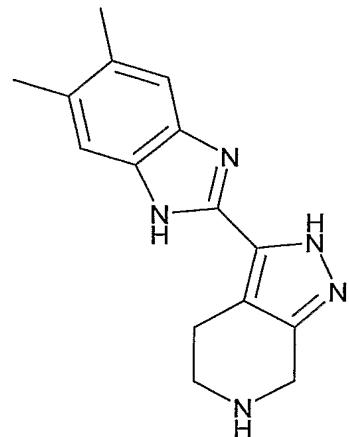
Les composés suivants (Tableau 11), ont été isolés et caractérisés par leur temps de rétention et pic moléculaire en Spectrométrie de Masse (Méthode A).

Tableau 11 : librairie d'urées obtenue

Entrée	Nom	Quantité de produit obtenue	Temps de rétention (minutes)	Ion moléculaire détecté
1	bis-trifluoroacétate du phénylamide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzo-imidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	14.6 mg	3.04	387.28
2	benzylamide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	1.8 mg	2.78	401.29
3	bis-trifluoroacétate du (2-chloro-phényl)-amide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	16 mg	2.92	421.25

4	(3-chloro-phényl)-amide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	7.9 mg	3.89	421.24
5	(4-chloro-phényl)-amide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	9.8 mg	3.36	421.25
6	bis-trifluoroacétate du butylamide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	2.4 mg	2.8	367.31
7	thiophen-2-ylamide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	3.8 mg	2.77	393.24
8	bis-trifluoroacétate du (2-methoxy-phényl)-amide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	14.4 mg	3.14	417.28
9	bis-trifluoroacétate du o-tolylamide de l'acide3-(5,6-diméthyl-1H-benzoimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylique	16.2 mg	2.68	401.29

Exemple 11 : 3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine



La 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparée de la façon suivante :

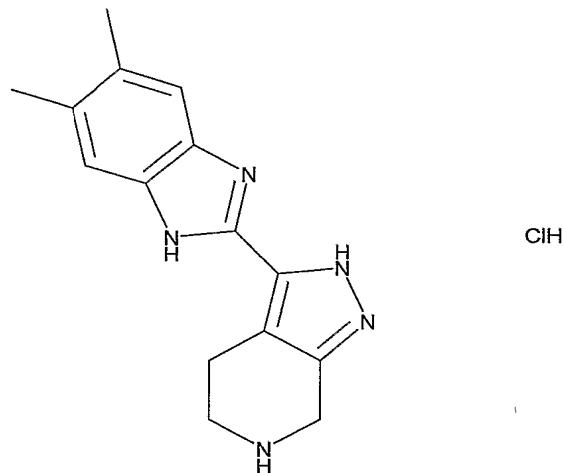
A une solution de 670 mg de 3-(2-amino-4,5-diméthyl-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle dans 5 9 mL de THF sont additionnés 9 mL d'eau et 2.8 mL d'acide trifluoroacétique. Après 2 heures d'agitation à 80°C, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. Il est ensuite repris dans de l'eau et le précipité formé est récupéré par filtration sur fritté, lavé avec une solution aqueuse de soude 1N et séché. La phase aqueuse obtenue est alors extraite avec du dichlorométhane, puis la phase organique est séchée sur sulfate de magnésium et concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu et le précipité sont réunis puis mis en solution dans le méthanol avec quelques gouttes de DMF. Cette solution est ensuite déposée sur phase MEGA BE-SCX. La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite 10 avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite.

On obtient ainsi 46 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre beige dont les caractéristiques sont les suivantes :

20 EI : m/z=267 M⁺ pic de base
m/z=238 [M - NHCH₂]⁺
m/z=209 [M - C₃H₈N]⁺.

R.M.N. ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO, δ en ppm) : 2,31 et 2,32 (2 s : 6H en totalité) ; 2,81 (t large, J = 5 Hz : 2H) ; 2,92 (t large, J = 5 Hz : 2H) ; 3,83 (s large : 2H) ; 7,22 (s large : 1H) ; 7,40 (s large : 1H) ; 12,28 (mf : 1H) ; 12,73 (mf : 1H).

Exemple 12 : Chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine



Le chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparé de la façon suivante :

A une solution de 1.7 g de 3-(2-amino-4,5-diméthyl-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle dans 40 mL d'éthanol est additionné 9 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 5N. Après 60 heures d'agitation à 80°C, le milieu réactionnel est ramené à température ambiante. Le précipité formé est récupéré par filtration sur fritté et séché. On obtient ainsi 1.04 g de chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre beige dont les caractéristiques sont les suivantes :

EI :	m/z=267	M^{+}	pic de base
	m/z=238	$[M - CH_2NH]^+$	
	m/z=209	$[M - C_3H_8N]^+$	
15	m/z=36	$[HCl]^+$	

R.M.N. 1H (300 MHz, $(CD_3)_2SO$ avec ajout de quelques gouttes de CD_3COOD , δ en ppm) : 2,40 (s : 6H) ; 3,23 (t large, $J = 5,5$ Hz : 2H) ; 3,45 (t, $J = 5,5$ Hz : 2H) ; 4,45 (s : 2H) ; 7,54 (s : 2H).

Le 3-(2-amino-4,5-diméthyl-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle peut être préparé de la façon suivante :

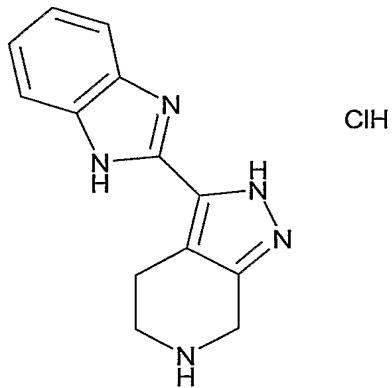
A une solution de 3 g de l'acide 2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle-3-carboxylique dans 50 mL de DMF anhydre, sont additionnés, à température ambiante, 8.5 g de HBTU ainsi que 2.9 g de

diisopropyléthylamine. Après vingt minutes d'agitation à température ambiante, sont additionnés 3.06 g de 4,5-diamino-o-xylène. Après 60 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué dans 3 L d'une solution aqueuse de NaHCO₃ à pH supérieur à 7, contenant 20 g de NaCl. La phase aqueuse est extraite trois fois avec 1 L d'acétate d'éthyle, puis les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous pression réduite. Le résidu brut obtenu est repris dans 150 mL de dichlorométhane et l'insoluble est éliminé par filtration sur fritté. Le filtrat est alors concentré sous pression réduite et purifié par chromatographie sur silice (20-45 µm Amicon) avec un gradient de 50 à 100 % d'acétate d'éthyle dans le cyclohexane. Les fractions contenant le produit recherché sont réunies et concentrées sous pression réduite. On obtient ainsi 4.37 g de 3-(2-amino-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle sous forme d'une poudre beige dont les caractéristiques sont les suivantes :

EI :	m/z=385	M ⁺	pic de base
	m/z=329	[M - C ₄ H ₈] ⁺	
	m/z=312	[M - C ₄ H ₉ O] ⁺	
	m/z=57	[C ₄ H ₉] ⁺	

R.M.N. ¹H (300 MHz, (CD₃)₂SO, δ en ppm) : 1,46 (s : 9H) ; 2,10 et 2,12 (2 s : 3H chacun) ; 2,77 (mt : 2H) ; 3,58 (t, J = 5,5 Hz : 2H) ; 4,53 (s : 2H) ; 4,57 (mf : 2H) ; 6,60 (s : 1H) ; 7,14 (s large : 1H) ; 9,10 (mf : 1H) ; 13,08 (mf : 1H).

Exemple 13 : Chlorhydrate de la 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine



Le chlorhydrate de la 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparé de la façon suivante :

A une solution de 200 mg de 3-(2-amino-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle dans 1 mL d'éthanol est additionné 2.2 mL d'une solution aqueuse d'acide chlorhydrique 5 N. Après 20 heures d'agitation à 80°C, le milieu réactionnel est ramené à température ambiante. L'insoluble est éliminé par filtration sur fritté et le filtrat est concentré sous pression réduite. On obtient ainsi 84 mg de chlorhydrate de la 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre orangée dont les caractéristiques sont les suivantes :

LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 240.26 ; temps de rétention = 1.68 minutes

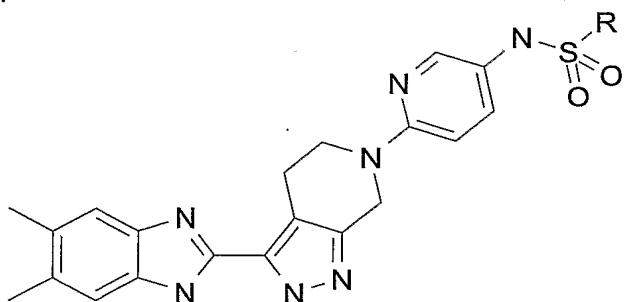
Le 3-(2-amino-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle peut être préparé de la façon suivante :

15 A une solution de 150 mg de l'acide 2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle-3-carboxylique dans 1 mL de DMF anhydre, sont additionnés, à température ambiante, 425 mg de HBTU ainsi que 145 mg de diisopropyléthylamine. Après vingt minutes d'agitation à température ambiante, sont additionnés 121 mg d'orthophénylènediamine.

20 Après 20 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est dilué dans 100 mL d'eau et 50 mL d'acétate d'éthyle.. La phase aqueuse est extraite trois fois avec 50 mL d'acétate d'éthyle, puis les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous pression réduite. Le résidu brut obtenu est purifié par HPLC (phase inverse C18 Lichroprep 12 µm) avec un gradient linéaire de 5 à 95 % d'acétonitrile contenant 0,07 % (v/v) d'acide trifluoroacétique dans l'eau contenant 0,07 % (v/v) d'acide trifluoroacétique, à un débit de 10 mL/mn. Les fractions contenant le produit recherché sont réunies et déposées sur phase MEGA BE-SCX. La phase SCX est ensuite lavée avec du méthanol puis extraite avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. La solution d'extraction obtenue est alors concentrée sous pression réduite. On obtient ainsi 200 mg de 3-(2-amino-phénylcarbamoyl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridine-6-carboxylate de tert-butyle sous forme d'une poudre beige dont les caractéristiques sont les suivantes :

LC/MS (Méthode A) : ion moléculaire détecté : 358,34 ; temps de rétention = 3,19 minutes.

Exemple 14 : Préparation d'une librairie de sulfonamides



- 5 La librairie de sulfonamides peut être préparée de la façon suivante :
- 40 mg de 6-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-ylamine sont mis en suspension dans 2 mL de dichlorométhane et la solution obtenue est distribuée dans 4 tubes à essais, à raison de 500 µL par tube.
- 10 Les 4 chlorures de sulfonyle (tableau 12) sont pesés et additionnés dans chacun des 4 tubes à essais, suivis de 15.6 µL de triéthylamine.

Tableau 12 : Chlorures de sulfonyle utilisés

Entrée	Nom	Quantité
1	CHLORURE DE THIOPHENE-2-SULFONYLE	5.6 mg
2	CHLORURE DE 4-METHOXYBENZENESULFONYLE	6.3 mg
3	CHLORURE DE 2-CHLOROBENZENESULFONYLE	6.4 mg
4	CHLORURE DE 2-METHOXY-4-METHYLBENZENESULPHONYLE	6.8 mg

Les 4 mélanges réactionnels sont agités par agitation orbitalaire à 40°C pendant 15 heures.

- 15 Pour chaque mélange réactionnel, un prélèvement de 5 µL est effectué et dilué dans 100 µL de DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque échantillon en solution dans le DMSO ainsi obtenu, est analysé par LC/MS (Méthode A).
- 20 Les 4 mélanges réactionnels sont ensuite évaporés à sec et les résidus d'évaporation sont placés en solution dans 500 µL de DMSO chacun et les

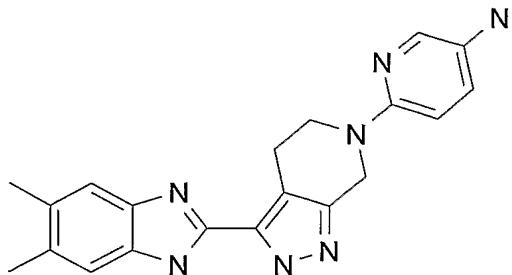
solutions obtenues sont purifiées par LC/MS (Méthode B). Après purification par LC/MS, les fractions contenant les composés recherchés sont (éventuellement réunies) déposées sur phase SCX (500 mg de phase CUBCX1-HL). Les phases SCX sont ensuite lavées avec du méthanol puis extraites avec une solution d'ammoniac 2M dans le méthanol. Les solutions d'extraction sont collectées en tubes de verre tarés, évaporées à sec (évaporateur centrifuge Savant AES 2000 ou Genevac HT8), pesées (Mettler Toledo Automated Workstation LA200) et diluées à 10 mM dans le DMSO (Gilson Liquid Handler Quad-Z 215). Chaque solution obtenue est analysée par LC/MS (Méthode A).

Les composés suivants (Tableau 13), ont été isolés et caractérisés par leur temps de rétention et pic moléculaire en Spectrométrie de Masse (Méthode A).

Tableau 13 : librairie de sulfonamides obtenue

Entrée	Nom	Quantité de produit obtenue	Temps de rétention (minutes)	Ion moléculaire détecté
1	N-[6-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-yl]-thiophène-2-sulfonamide	2.9 mg	3.07	506.21
2	N-[6-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-yl]-4-méthoxy-benzènesulfonamide	3.0 mg	3.20	530.25
3	2-Chloro-N-[6-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-yl]-benzènesulfonamide	3.0 mg	3.38	534.21
4	N-[6-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-yl]-2-méthoxy-4-methyl-benzènesulfonamide	3.8 mg	3.38	544.26

Exemple 15 : 6-[3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-ylamine

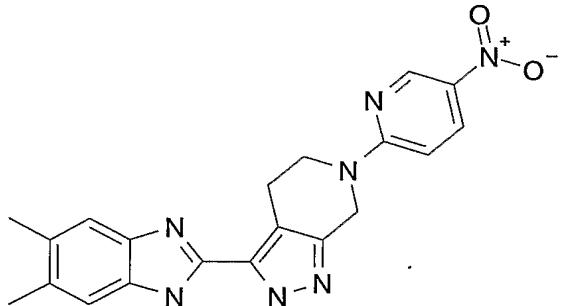


La 6-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-ylamine peut être préparée de la façon suivante :

A une solution de 545 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(5-nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine dans 60 mL d'éthanol est additionné 55 mg de Pd/CaCO₃ 10%. Après 15 heures d'agitation à 35°C sous 3 bars d'hydrogène, le milieu réactionnel est ramené à température ambiante, filtré sur célite puis concentré sous pression réduite. On obtient ainsi 300 mg de 6-[3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridin-6-yl]-pyridin-3-ylamine sous forme de poudre marron dont les caractéristiques sont les suivantes :

El m/z=359 M⁺ pic de base
 15 m/z=266 (M - C₅H₅N₂)⁺

Exemple 16 : 3-(5,6-Diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(5-nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine

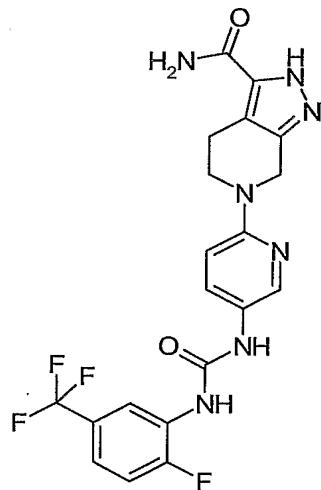


La 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(5-nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine peut être préparée de la façon suivante :

A une solution de 500 mg de chlorhydrate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine dans 5 mL de diméthylformamide sont additionnés 287 mg de 2-chloro-5-nitropyridine et 500 mg de carbonate de potassium. Après 20 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est additionné à 50 ml d'eau. Le précipité formé est récupéré par filtration sur fritté, lavé avec 3 fois 15 mL d'eau puis séché sous pression réduite. On obtient ainsi 548 mg de 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-6-(5-nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine sous forme de poudre jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

10 EI : m/z=389 M⁺ pic de base
 m/z=266 (M - C₅H₃N₂O₂)⁺

Exemple 17: 6-{5-[3-(2-Fluoro-5-trifluorométhyl-phényl)-uréido]-pyridin-2-yl}-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide



15

Le 6-{5-[3-(2-Fluoro-5-trifluorométhyl-phényl)-uréido]-pyridin-2-yl}-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide peut être préparé de la façon suivante à partir du 6-(5-tert-butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle:

20 L'ester éthylique du 6-(5-tert-butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle est transformé en carboxamide par amidification par une solution d'ammoniaque et conduit à

l'obtention de 6-(5-tert-butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide.

EI : m/z=358

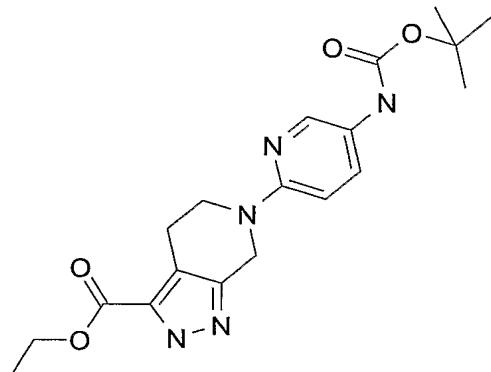
- Le groupement amine du 6-(5-tert-butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide est déprotégé en milieu acide (acide trifluoroacétique dans le dichlorométhane) et conduit à l'obtention de 6-(5-amino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide.

EI : m/z= 258

- La fonction urée est introduite sur le 6-(5-amino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide selon la méthode décrite à l'exemple 1 en utilisant le 2-fluoro-5-(trifluorométhyl)phényl-isocyanate, et conduit à l'obtention du 6-[5-[3-(2-fluoro-5-trifluorométhyl-phényl)-uréido]-pyridin-2-yl]-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxamide.

EI : m/z=463

Exemple 18 : 6-(5-tert-Butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle



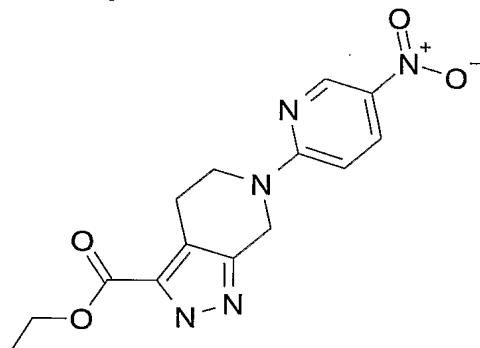
- Le 6-(5-tert-Butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle peut être préparé de la façon suivante : A une solution de 50 mg de 6-(5-nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle dans 6 mL de méthanol sont additionnés 5 mg de Pd/C 10 % et 38 mg de di-tert-butyldicarbonate. Après

12 heures d'agitation à température ambiante sous 3 bars d'hydrogène, le milieu réactionnel est filtré sur célite puis concentré sous pression réduite. Le brut réactionnel obtenu est purifié par chromatographie flash (SiO_2 , $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ gradient 75/25 à 25/75). On obtient ainsi 20 mg de 6-(5-tert-

5 Butoxycarbonylamino-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle sous forme de poudre blanche dont les caractéristiques sont les suivantes :

EI :	$m/z=387$	M^{+}
	$m/z=331$	($M - \text{C}_4\text{H}_8$) $^{+}$ pic de base
10	$m/z=286$	($m/z=331 - \text{CO}_2\text{H}$) $^{+}$
	$m/z=194$	$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}_3\text{O}_2^{+}$
	$m/z=57$	C_4H_9^{+}

Exemple 19 : 6-(5-Nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle



15

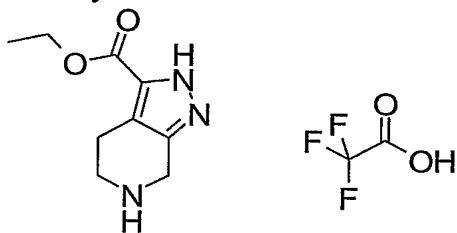
Le 6-(5-Nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle peut être préparé de la façon suivante :

A une solution de 1 g de trifluoroacétate de la 3-(5,6-diméthyl-1H-benzimidazol-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine dans 10 mL de pyridine sont additionnés 522 mg de 2-chloro-5-nitropyridine. Après 20 heures d'agitation à température ambiante, le milieu réactionnel est concentré sous pression réduite. Le précipité formé est récupéré par filtration sur fritté, lavé avec 3 fois 15 mL d'eau, puis séché sous pression réduite. Le brut réactionnel obtenu est purifié par chromatographie flash (SiO_2 , cyclohexane/ AcOEt gradient 75/25 à 25/75). On obtient ainsi 450 mg de 6-(5-Nitro-pyridin-2-yl)-4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle sous forme de poudre jaune dont les caractéristiques sont les suivantes :

El :	m/z=317	M ⁺	pic de base
	m/z=271	(M - NO ₂) ⁺	
	m/z=194	(M - C ₅ H ₃ N ₂ O ₂) ⁺	
	m/z=148	(m/z=194 - C ₂ H ₆ O) ⁺	

5

Exemple 20 : Trifluoroacétate de 4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle



Le trifluoroacétate du 4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle peut être préparé de la façon suivante :

A une solution de 3 g de 2,4,5,7-tétrahydro-pyrazolo[3,4-c]pyridyl-3,6-dicarboxylate de 6-tert-butyle 3-éthyle dans 50 mL de tétrahydrofurane, sont additionnés 50 mL d'eau suivis de 12 mL d'acide trifluoroacétique. Après 2 heures d'agitation au reflux, le milieu réactionnel est ramené à température ambiante et est additionné d'une solution aqueuse saturée de Na₂CO₃ jusqu'à l'obtention d'un pH basique. La phase aqueuse obtenue est extraite 3 fois avec de l'acétate d'éthyle. Les phases organiques rassemblées sont séchées sur sulfate de magnésium et concentrées sous pression réduite. On obtient ainsi 1.49 g de trifluoroacétate du 4,5,6,7-tétrahydro-2H-pyrazolo[3,4-c]pyridine-3-carboxylate d'éthyle dont les caractéristiques sont les suivantes :

El :	m/z=195	M ⁺
	m/z=166	(M - CH ₃ N) ⁺
	m/z=138	(M - C ₃ H ₇ N) ⁺
	m/z=120	(m/z=166 - C ₂ H ₆ O) ⁺
25	m/z=92	(m/z=120 - CO) ⁺

Mesures du potentiel d'inhibition des produits à l'encontre de l'activité des kinases Tie2 et KDR :

L'activité inhibitrice des produits à l'encontre des kinases Tie2 et KDR est testée selon les protocoles expérimentaux décrits ci-dessous.

1. Tie2

La séquence codante de Tie2 humain correspondant aux acides aminés du domaine intracellulaire 776-1124 a été générée par PCR en utilisant le cDNA isolé de placenta humain comme modèle. Cette séquence a été introduite 5 dans un vecteur d'expression *baculovirus* pFastBacGT sous forme de protéine de fusion GST.

L'effet inhibiteur des molécules est déterminé dans un test de phosphorylation de PLC par Tie2 en présence de GST-Tie2 purifiée à environ 80 % d'homogénéité. Le substrat est composé des fragments SH2-SH3 de la 10 PLC exprimée sous forme de protéine de fusion GST.

L'activité kinase de Tie2 est mesurée dans un tampon MOPS 20mM pH 7.2, contenant 10 mM MgCl₂, 10 mM MnCl₂, 1 mM DTT, 10 mM de glycérophosphate. Dans une plaque 96 trous FlashPlate maintenue sur glace, on dépose un mélange réactionnel composé de 70 µl de tampon kinase 15 contenant 100 ng d'enzyme GST-Tie2 par trou. Ensuite 10 µl de la molécule à tester diluée dans du DMSO à une concentration de 10 % maximum sont ajoutés. Pour une concentration donnée, chaque mesure est effectuée en quatre exemplaires. La réaction est initiée en ajoutant 20 µl de solution contenant 2 µg de GST-PLC, 2 µM d'ATP froid et 1 µCi d'³³P[ATP]. Après 20 1 heure d'incubation à 37°C, la réaction est stoppée en ajoutant 1 volume (100 µl) d'EDTA à 200 mM. Après élimination du tampon d'incubation, les trous sont lavés trois fois avec 300 µl de PBS. La radioactivité est mesurée sur un MicroBeta1450 Wallac.

L'inhibition de l'activité Tie2 est calculée et exprimée en pourcentage 25 d'inhibition par rapport à l'activité contrôle déterminée en l'absence de composé.

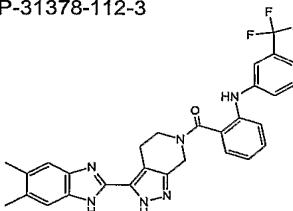
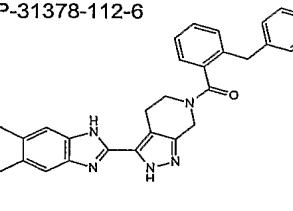
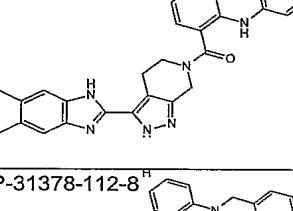
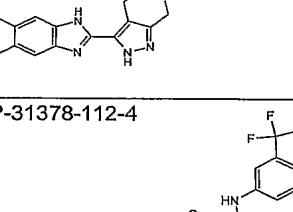
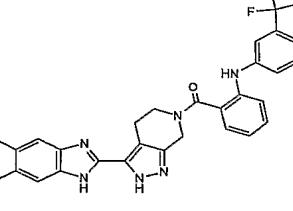
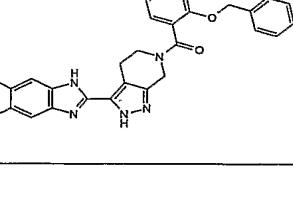
2. KDR

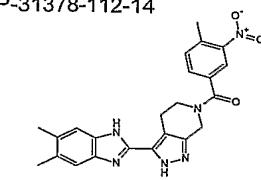
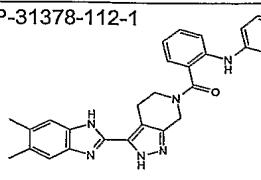
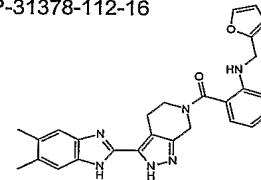
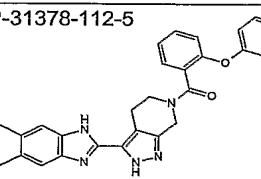
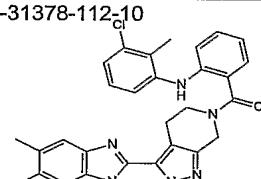
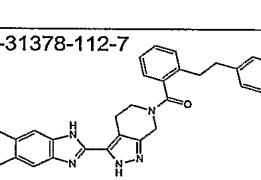
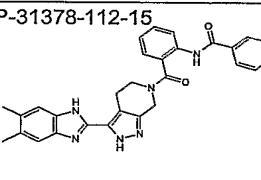
L'effet inhibiteur des composés est déterminé dans un test de phosphorylation de substrat par l'enzyme KDR *in vitro* par une technique de scintillation (plaque 96 trous, NEN). 30

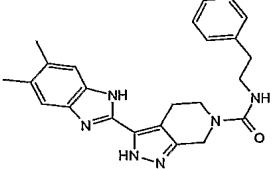
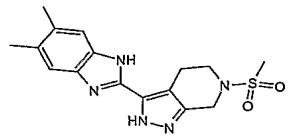
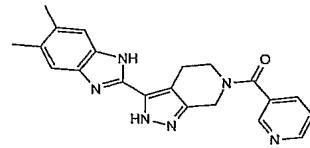
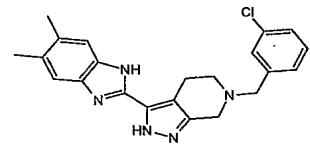
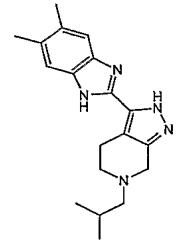
Le domaine cytoplasmique de l'enzyme KDR humaine a été cloné sous forme de fusion GST dans le vecteur d'expression baculovirus pFastBac. La protéine a été exprimée dans les cellules SF21 et purifiée à environ 60 % d'homogénéité.

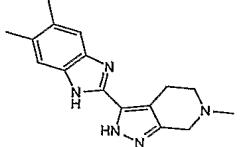
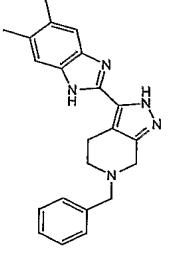
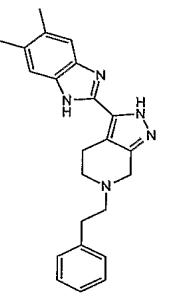
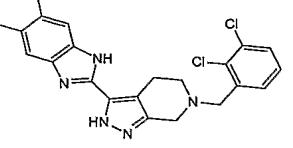
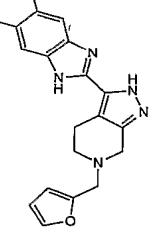
- L'activité kinase de KDR est mesurée dans 20 mM MOPS, 10 mM MgCl₂, 10 mM MnCl₂, 1 mM DTT, 2.5 mM EGTA, 10 mM b-glycérophosphate, pH = 7.2, en présence de 10 mM MgCl₂, 100 µM Na₃VO₄, 1 mM NaF. 10 µl du composé sont ajoutés à 70 µl de tampon kinase contenant 100 ng d'enzyme
- 5 KDR à 4°C. La réaction est lancée en ajoutant 20 µl de solution contenant 2 µg de substrat (fragment SH2-SH3 de la PLC γ exprimée sous forme de protéine de fusion GST), 2 µCi γ ³³P[ATP] et 2 µM ATP froid. Après 1 heure d'incubation à 37°C, la réaction est stoppée en ajoutant 1 volume (100 µl) de 200 mM EDTA. Le tampon d'incubation est retiré, et les puits sont lavés trois
- 10 fois avec 300 µl de PBS. La radioactivité est mesurée dans chaque puits en utilisant un compteur de radioactivité Top Count NXT (Packard). Le bruit de fond est déterminé par la mesure de la radioactivité dans quatre puits différents contenant l'ATP radioactif et le substrat seul. Un contrôle d'activité totale est mesuré dans quatre puits différents contenant
- 15 tous les réactifs (γ ³³P-[ATP], KDR et substrat PLC γ) mais en l'absence de composé.
- L'inhibition de l'activité KDR avec le composé de l'invention est exprimée en pourcentage d'inhibition de l'activité contrôle déterminée en l'absence de composé.
- 20 Le composé SU5614 (Calbiochem) (1 µM) est inclus dans chaque plaque comme contrôle d'inhibition.

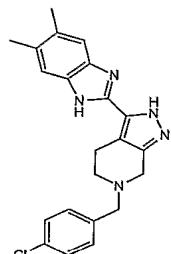
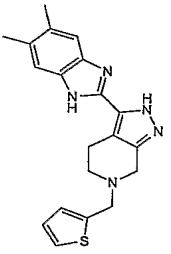
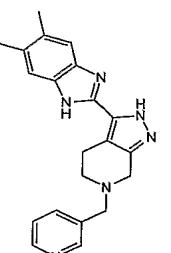
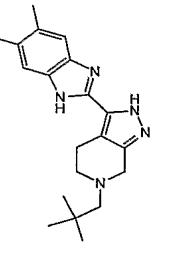
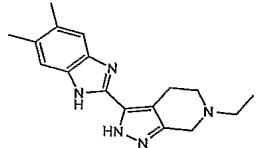
Résultats :

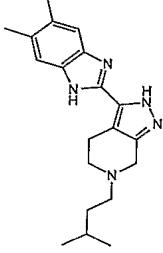
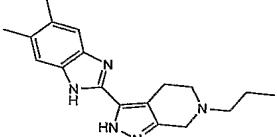
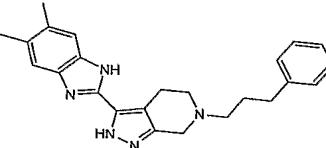
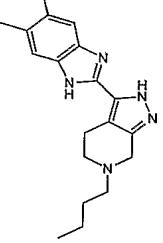
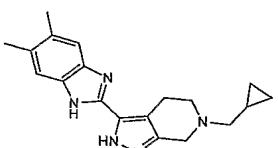
Chemistry	Tie2		KDR	
	% Inhib at 10µM (FRX)		% Inhib at 10µM	
	Assay 1	Assay 2	Assay 1	Assay 2
P-31378-112-3 	78,7	79,1	59,0	56,5
P-31378-112-6 	92,7	93,8	71,4	68,0
P-31378-112-2 	92,6	92,6	98,1	97,4
P-31378-112-8 	87,8	93,3	86,8	89,0
P-31378-112-4 	83,1	87,2	56,2	50,1
P-31378-112-9 	82,6	85,9	53,2	45,1

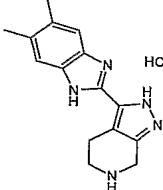
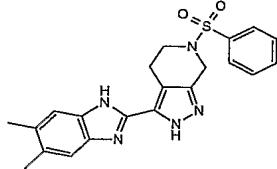
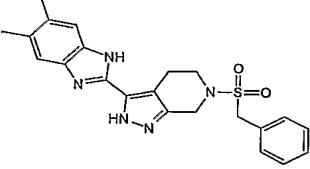
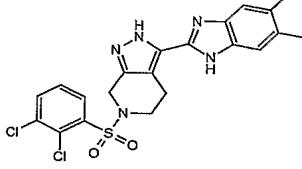
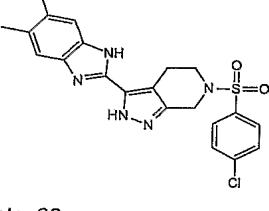
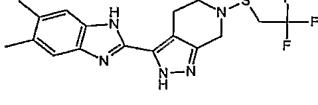
P-31378-112-14 	69,7	73,8	19,5	13,0
P-31378-112-1 	83,1	88,1	96,5	96,7
P-31378-112-16 	88,7	88,3	90,2	89,1
P-31378-112-5 	87,1	86,4	94,7	95,4
P-31378-112-10 	90,6	87,9	42,3	28,7
P-31378-112-7 	92,7	92,0	68,6	64,3
P-31378-112-15 	80,1	83,8	75,5	77,4

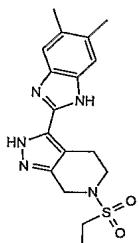
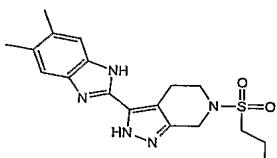
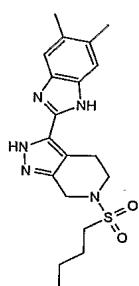
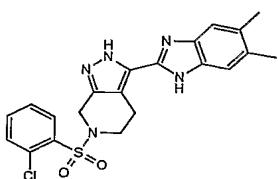
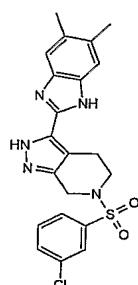
Chemistry	KDR % Inhib. 10µM	Tie2 % Inhib. 10µM
 Chemistry 2	77,20	
 Chemistry 3	78,10	
 Chemistry 4	25,40	
 Chemistry 5	88,80	
 Chemistry 6	2,10	41,2

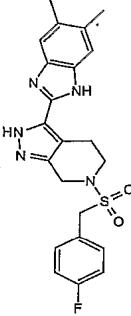
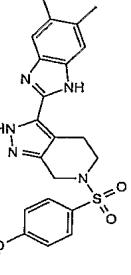
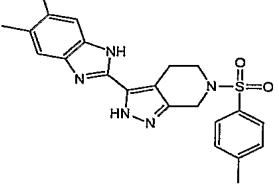
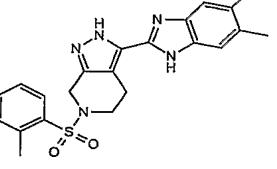
 Chemistry 7	12,15	48,6
 Chemistry 8	85,45	64,3
 Chemistry 9	15,45	56,7
 Chemistry 10	79,55	83,9
 Chemistry 11	70,35	66,1

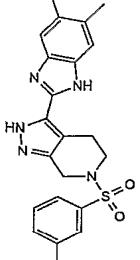
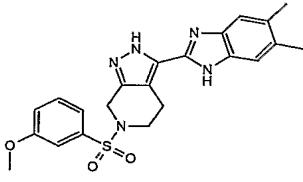
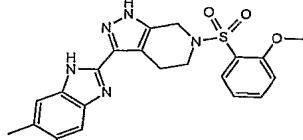
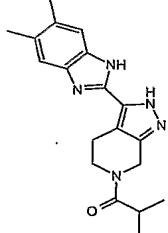
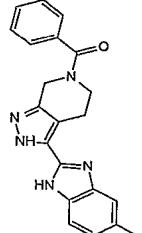
 <p>Chemistry 12</p>	69,05	60,3
 <p>Chemistry 13</p>	84,50	41,5
 <p>Chemistry 14</p>	14,85	50,5
 <p>Chemistry 15</p>	39,30	69,4
 <p>Chemistry 16</p>	-5,75	36,4

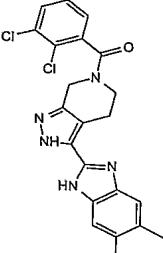
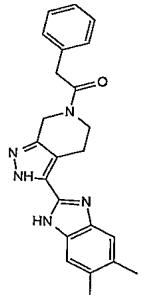
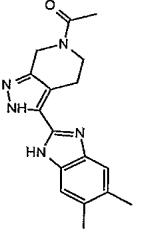
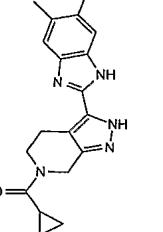
	-2,90	50,7
	-3,70	55,0
	17,90	68,1
	1,65	47,6
	1,85	33,0

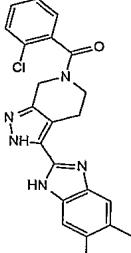
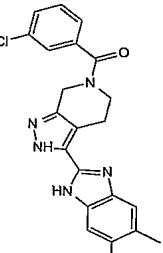
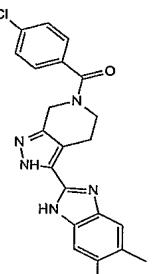
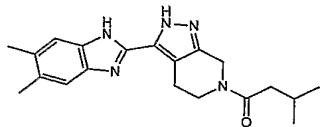
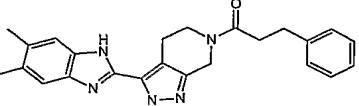
	3,65	24,9
	48	92,5
	70,75	91,5
	31,85	89,1
	27,75	89,1
	22,95	65,4

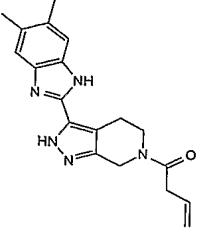
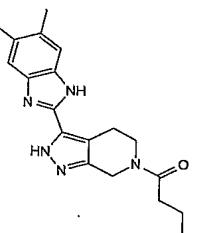
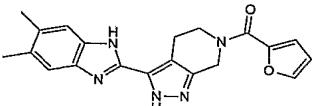
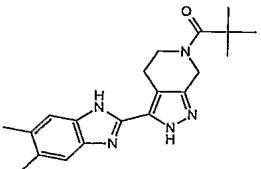
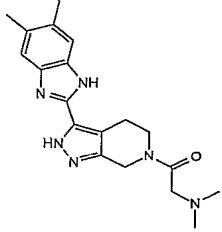
 Chemistry 28	16,50	78,5
 Chemistry 29	13,35	47,5
 Chemistry 30	15,30	44,2
 Chemistry 31	45,70	93,2
 Chemistry 32	46,45	91,5

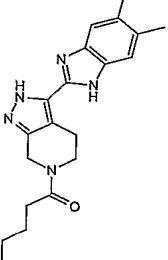
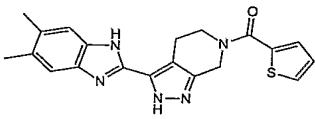
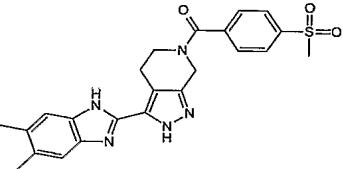
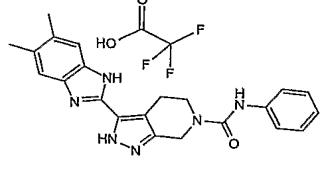
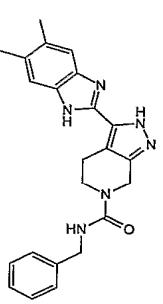
 Chemistry 33	57,70	95,9
 Chemistry 34	18,15	84,7
 Chemistry 35	27,40	88,8
 Chemistry 36	49,40	90,8

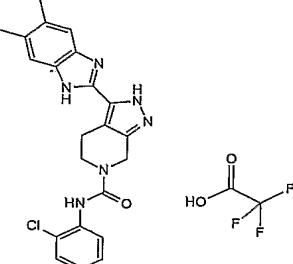
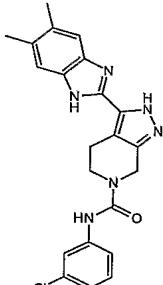
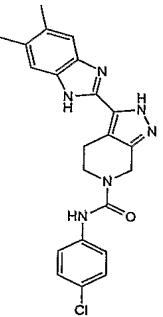
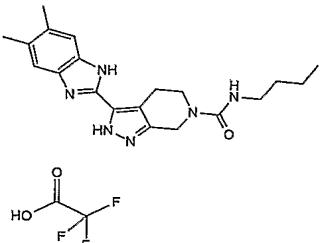
 <p>Chemistry 37</p>	41,20	88,3
 <p>Chemistry 38</p>	20,85	84,6
 <p>Chemistry 39</p>	30,90	97,9
 <p>Chemistry 40</p>	14,40	83,4
 <p>Chemistry 41</p>	72,50	86,3

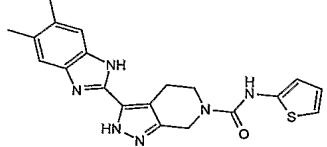
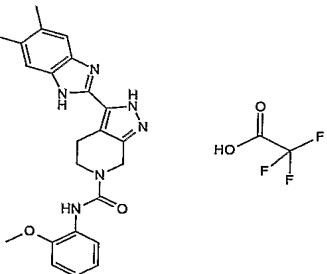
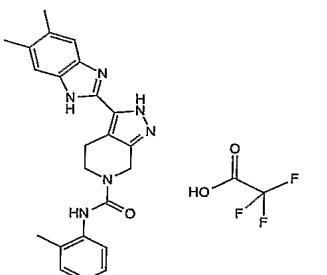
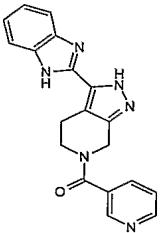
 Chemistry 42	52,65	97,4
 Chemistry 43	10,90	84,4
 Chemistry 44	41,10	90,8
 Chemistry 45	33,40	94,1

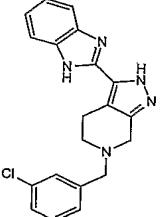
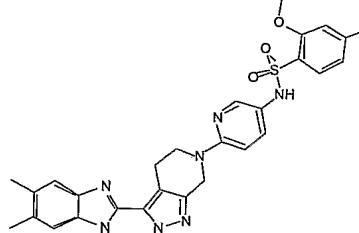
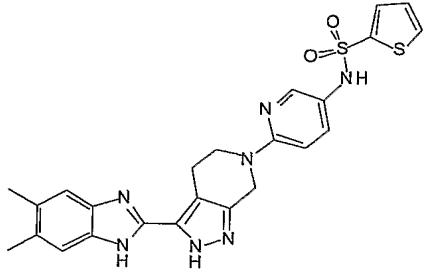
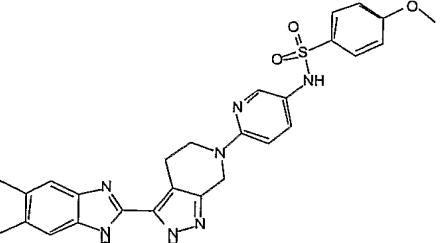
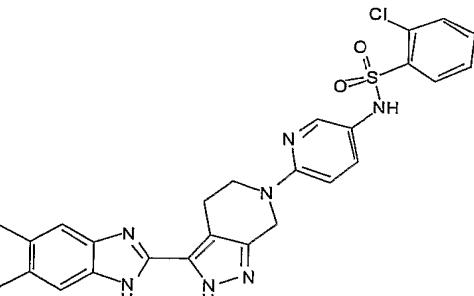
 Chemistry 46	73,05	96,7
 Chemistry 47	78,55	87,7
 Chemistry 48	41,95	83,8
 Chemistry 49	12,20	84,8
 Chemistry 50	74,75	82,4

 Chemistry 51	38,70	72,9
 Chemistry 52	29,35	89,3
 Chemistry 53	74,55	92,7
 Chemistry 54	11,25	81,3
 Chemistry 55	15,95	65,4

 <p>Chemistry 56</p>	46,65	92,5
 <p>Chemistry 57</p>	75,15	94,6
 <p>Chemistry 58</p>	27,90	82,3
 <p>Chemistry 59</p>	17,6	33,2
 <p>Chemistry 60</p>	33,55	64,85

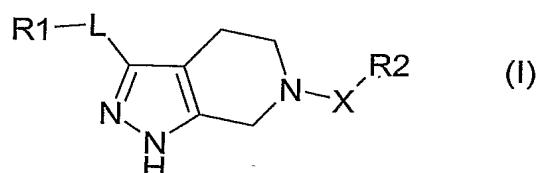
	12,7	3,75
	12,85	21
	-0,3	23,75
	18	38,5

 Chemistry 65	63,3	85,9
 Chemistry 67	8,1	18,05
 Chemistry 68	19,5	19,1
 Chemistry 69	18,55	59,3

	92,1	65,5
	98	
	100	
	99	
	100	

REVENDICATIONS

1. Produit de formule générale (I) suivante :



et ses tautomères, caractérisé en ce que :

5 L est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO, NHCO, NH, NHSO₂, SO₂NH, NHCONH, CH₂NH, NHCH₂,

X est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO ;

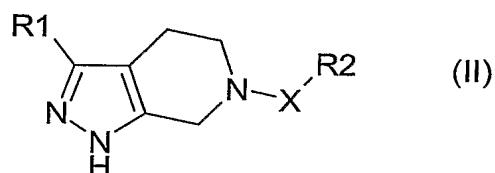
10 R1 est choisi parmi OH, H, alkyle, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué, et, lorsque X est liaison, alors R1 peut aussi être halogène;

R2 est H ou choisi parmi alkyle, alkylène, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

et en ce que les substituants sont indépendamment choisis parmi R3, O-R3, halogène, NO₂, SO₂-R3, CO-R3, SO₂NH-R3, CONH-R3, N-(R3)₂, NHCO-R3,

15 NHSO₂-R3, NHCONH-R3, NHSO₂NH-R3, OCO-R3, COO-R3, OSO₂-R3, SO₂O-R3, OCONH-R3, OSO₂NH-R3, dans lequel chaque R3 est indépendamment choisi parmi H, alkyle, cycloalkyle, alcényle, aryle, hétéroaryle, hétérocyclyle, éventuellement substitué par halogène, aryle, hétéroaryle, R4, OR4, N(R4)₂, dans lequel chaque R4 est indépendamment 20 choisi parmi H, C1-C4 alkyle, et C1-C4 alkyle halogéné.

2. Produit selon la revendication 1, de formule générale (II) suivante :



et ses tautomères, caractérisé en ce que :

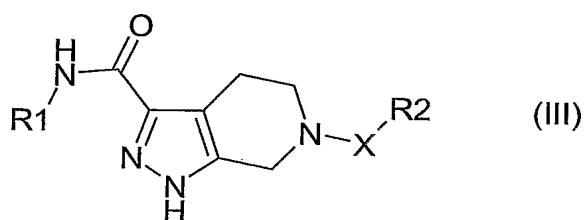
X est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO ;

R1 est choisi parmi alkyle, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

R2 est H ou choisi parmi alkyle, alkylène, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

- 5 et en ce que les substituants sont indépendamment choisis parmi R3, O-R3, halogène, NO₂, SO₂-R3, CO-R3, SO₂NH-R3, CONH-R3, N-(R3)₂, NHCO-R3, NHSO₂-R3, NHCONH-R3, NHSO₂NH-R3, OCO-R3, COO-R3, OSO₂-R3, SO₂O-R3, OCONH-R3, OSO₂NH-R3, dans lequel chaque R3 est indépendamment choisi parmi H, alkyle, cycloalkyle, alcèneyle, aryle,
- 10 10 hétéroaryle, hétérocyclyle, éventuellement substitué par halogène, aryle, hétéroaryle, OR4, N(R4)₂, dans lequel chaque R4 est indépendamment choisi parmi H, C1-C4 alkyle.

3. Produit selon la revendication 1, de formule générale (III) suivante :



15 (III)

et ses tautomères, caractérisé en ce que :

X est choisi parmi liaison, CH₂, CO, SO₂, CONH, COO ;

R1 est choisi parmi alkyle, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

- 20 R2 est H ou choisi parmi alkyle, alkylène, cycloalkyle, hétérocyclyle, aryle, hétéroaryle, éventuellement substitué ;

et en ce que les substituants sont indépendamment choisis parmi R3, O-R3, halogène, NO₂, SO₂-R3, CO-R3, SO₂NH-R3, CONH-R3, N-(R3)₂, NHCO-R3, NHSO₂-R3, NHCONH-R3, NHSO₂NH-R3, OCO-R3, COO-R3, OSO₂-R3,

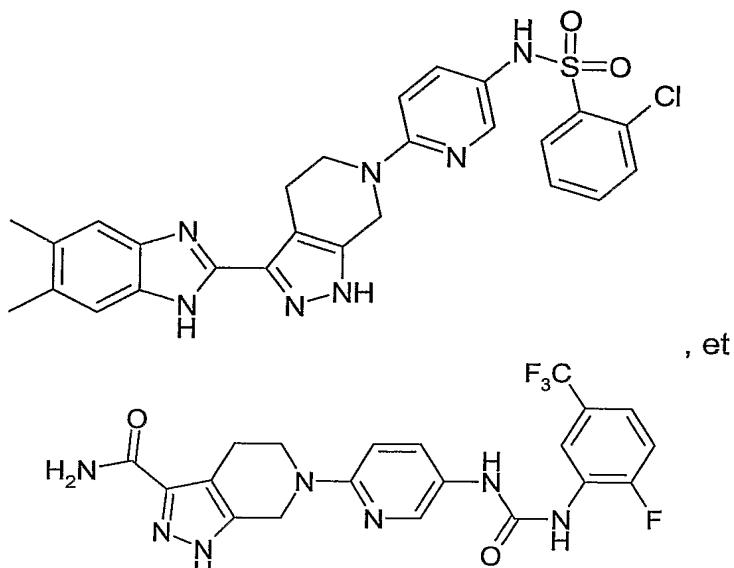
- 25 SO₂O-R3, OCONH-R3, OSO₂NH-R3, dans lequel chaque R3 est indépendamment choisi parmi H, alkyle, cycloalkyle, alcèneyle, aryle, hétéroaryle, hétérocyclyle, éventuellement substitué par halogène, aryle, hétéroaryle, OR4, N(R4)₂, dans lequel chaque R4 est indépendamment choisi parmi H, C1-C4 alkyle.

4. Produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que R1 est hétéroaryle, éventuellement substitué.
5. Produit selon la revendication 4, caractérisé en ce que R1 est choisi parmi benzimidazolyle, indolyle, pyrrolyle, éventuellement substitué par halogène, R4, O-R4.
6. Produit selon la revendication 5, caractérisé en ce que R1 est choisi parmi benzimidazol-2-yle, indol-2-yle, pyrrol-2-yle, éventuellement substitué par halogène, R4, O-R4.
7. Produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que R2 est choisi parmi phényle, pyridyle, thiényl, C1-C4 alkyle, C3-C7 cycloalkyle, éventuellement substitué.
- 10 8. Produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que X est choisi parmi CO, SO₂.
9. Produit selon la revendication 1, caractérisé en ce que R1 est H.
- 15 10. Produit selon la revendication 1, caractérisé en ce que R1 est aryle substitué.
11. Produit selon la revendication 1, caractérisé en ce que R1-L est R1-NH-CO.
12. Produit selon la revendication 11, caractérisé en ce que R1 est H.
- 20 13. Produit selon l'une quelconque des revendications 1, 11 ou 12, caractérisé en ce que X est liaison, et en ce que R2 est choisi parmi aryle substitué et hétéroaryle substitué.
14. Produit selon la revendication 13, caractérisé en ce que R2 est choisi parmi
 - aryle substitué par NHO₂-R3 ou NHCONH-R3, et
 - hétéroaryle substitué par NHO₂-R3, ou NHCONH-R3.
- 25 15. Produit selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'aryle est phényle, et en ce que hétéroaryle est choisi parmi pyridyle et pyrimidyle.

16. Produit selon la revendication 14, caractérisé en ce que R3 est choisi parmi aryle substitué et hétéroaryle substitué.

17. Produit selon la revendication 16, caractérisé en ce que R3 est substitué par un substituant sélectionné dans le groupe constitué par halogène, R4, OR4, N(R4)₂, dans lequel chaque R4 est indépendamment choisi parmi H, C1-C4 alkyle, et C1-C4 alkyle halogéné.

18. Produit selon la revendication 17, caractérisé en ce qu'il est choisi parmi :



10

19. Produit selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisé en ce qu'il est sous forme :

- 4) racémique, ou
- 5) enrichie en un stéréoisomère, ou

15 6) enrichie en un énantiomère ;

et en ce qu'il est éventuellement salifié.

20. Composition pharmaceutique comprenant un produit selon l'une quelconque des revendications précédentes, en combinaison avec un excipient pharmaceutiquement acceptable.

20 21. Utilisation d'un produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, comme agent modulant l'activité d'une kinase.

22. Utilisation d'un produit selon la revendication 21, dans laquelle la kinase est choisie parmi Tie2 et KDR.

23 Utilisation d'un produit selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, pour la fabrication d'un médicament utile pour traiter un état pathologique.

5 24. Utilisation selon la revendication 23, dans laquelle l'état pathologique est le cancer.

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
27 janvier 2005 (27.01.2005)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 2005/007653 A3

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
C07D 471/04, A61K 31/437, A61P 35/00

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR2004/001778

(22) Date de dépôt international : 8 juillet 2004 (08.07.2004)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
03/08442 10 juillet 2003 (10.07.2003) FR
03/08441 10 juillet 2003 (10.07.2003) FR

(71) Déposant : AVENTIS PHARMA S.A. [FR/FR]; 20, avenue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR).

(72) Inventeurs: THOMPSON, Fabienne; 25, rue Cotte, F-75012 Paris (FR). MAILLIET, Patrick; 87, rue Dalayrac, F-94120 Fontenay sous Bois (FR). DAMIANO, Teresa; 125, rue de Tolbiac, F-75013 Paris (FR).

CHERRIER, Marie-Pierre; 75, avenue Georges Gosnat, F-94200 Ivry sur Seine (FR). CLERC, François; 35, boulevard Colbert, F-92160 Antony (FR). HALLEY, Frank; 26, rue de la Borne au Diable, F-92310 Sèvres (FR). BOUCHARD, Hervé; 17, allée de la Prévôté, F-94320 Thiais (FR). GAUZY-LAZO, Laurence; 14, rue Liancourt, F-75014 Paris (FR). BAUDOIN, Bernard; 3, rue Anatole France, F-92370 Chaville (FR). SOUAILLE, Catherine; 12, avenue Jean Bouin, F-94600 Choisy le Roi (FR). VIVIANI, Fabrice; 46, rue Jules Fossier, F-95380 Louvres (FR). TABART, Michel; 3, rue Paul Langevin, F-91290 La Norville (FR).

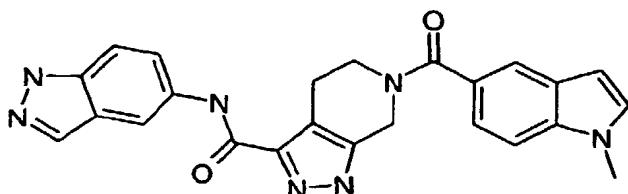
(74) Mandataire : RABOIN, Jean-Christophe; AVENTIS PHARMA S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron, F-92165 Antony Cedex (FR).

(81) États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection nationale disponible) : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG,

[Suite sur la page suivante]

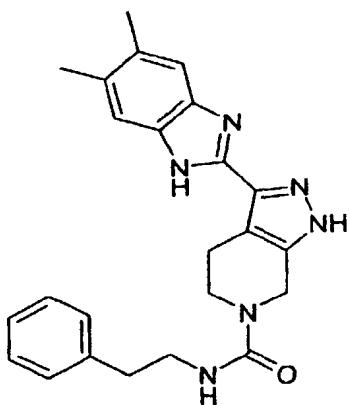
(54) Title: SUBSTITUTED TETRAHYDRO-1H-PYRAZOLO[3,4-C]PYRIDINES, COMPOSITIONS CONTAINING SAME AND USE

(54) Titre : TETRAHYDRO-1H-PYRAZOLO[3,4-C]PYRIDINES SUBSTITUÉES, COMPOSITIONS LES CONTENANT ET UTILISATION



(57) Abstract: The invention concerns substituted tetrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridines, compositions containing same and use thereof. The invention concerns in particular novel substituted tetrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridines having a therapeutic activity, useful in particular in oncology.

(57) Abrégé : Tétrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridines substituées, compositions les contenant et utilisation. La présente invention concerne notamment de nouvelles tétrahydro-1H-pyrazolo[3,4-c]pyridines substituées ayant une activité thérapeutique, utilisables en particulier en oncologie. Par exemple :





MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) *États désignés (sauf indication contraire, pour tout titre de protection régionale disponible) :* ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publiée :

- avec rapport de recherche internationale
- avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

- (88) **Date de publication du rapport de recherche internationale:**

24 mars 2005

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
'FR2004/001778

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C07D471/04 A61K31/437 A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/12242 A2 (PHARMACIA & UPJOHN S.P.A., ITALY) 14 February 2002 (2002-02-14) claims 1,9-13,24-27 -----	1,3,7,8, 10,19-24
X	WO 96/12720 A (PFIZER INC.) 2 May 1996 (1996-05-02) cited in the application claim 1 ----- -----	1,2,9, 19,20,23 -/-

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

5 January 2005

Date of mailing of the international search report

26/01/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bosma, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
FR2004/001778

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KROGSGAARD-LARSEN P. ET AL.: "GABA agonists. Synthesis and structure-activity studies on analogues of isoguvacine and THIP" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY., vol. 14, no. 2, 1979, pages 157-164, XP002268840 EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS., FR ISSN: 0223-5234 cited in the application * tableau I, composés 17, 20, 23 * -----	1,20-24
X	MORENO-MANAS, MARCIAL ET AL: "Palladium-catalyzed allylation of 3-hydroxyisoxazole, 5-isoxazolone and 5-pyrazolone systems" TETRAHEDRON, CODEN: TETRAB; ISSN: 0040-4020, vol. 50, no. 2, 1994, pages 515-528, XP000652008 composé 4 page 516 -----	1
A	WO 03/024969 A (MERCK & CO., INC.) 27 March 2003 (2003-03-27) * schéma E et revendications 1 et 11 *	1,2, 20-24
A	FR 2 831 537 A (AVENTIS PHARMA S.A.) 2 May 2003 (2003-05-02) the whole document -----	1,2, 20-24
A	WO 99/30710 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO.) 24 June 1999 (1999-06-24) the whole document -----	1,20-24
X,P	KREHAN, DORTE ET AL: "Aza-THIP and related analogues of THIP as GABAC antagonists" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, CODEN: BMECEP; ISSN: 0968-0896, vol. 11, no. 23, 2003, pages 4891-4896, XP002312461 the whole document -----	1,20
E	WO 2004/078733 A1 (VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, USA) 16 September 2004 (2004-09-16) claim 1; example 194 -----	1
E	WO 2004/064778 A2 (MERCK & CO. INC., USA) 5 August 2004 (2004-08-05) intermédiaires; claim 9; examples 11,12 -----	1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No	FR2004/001778
------------------------------	---------------

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0212242	A2	14-02-2002		AU 8765401 A BR 0113176 A CA 2416527 A1 CN 1447810 T CZ 20030591 A3 EP 1320531 A2 HU 0300741 A2 JP 2004505977 T MX PA03001169 A NO 20030381 A NZ 524475 A PL 360663 A1 SK 1882003 A3 US 2003171357 A1	18-02-2002 17-06-2003 14-02-2002 08-10-2003 18-06-2003 25-06-2003 28-11-2003 26-02-2004 30-06-2003 24-02-2003 26-11-2004 20-09-2004 03-06-2003 11-09-2003
WO 9612720	A	02-05-1996		AU 702105 B2 AU 3531795 A AU 9240298 A BR 9504491 A CA 2201728 A1 CN 1161040 A ,B CZ 9701200 A3 EP 0787132 A1 FI 954991 A HU 77517 A2 WO 9612720 A1 JP 9511758 T NO 971811 A NZ 292991 A PL 319758 A1 ZA 9508839 A	11-02-1999 15-05-1996 21-01-1999 20-05-1997 02-05-1996 01-10-1997 14-01-1998 06-08-1997 21-04-1996 28-05-1998 02-05-1996 25-11-1997 18-06-1997 25-02-1999 18-08-1997 21-04-1997
WO 03024969	A	27-03-2003	WO	03024969 A1	27-03-2003
FR 2831537	A	02-05-2003		FR 2831537 A1 BR 0213562 A CA 2465247 A1 EP 1441725 A1 WO 03035065 A1 US 2004048868 A1	02-05-2003 31-08-2004 01-05-2003 04-08-2004 01-05-2003 11-03-2004
WO 9930710	A	24-06-1999		AU 747705 B2 AU 1629799 A CA 2314355 A1 EP 1043998 A1 JP 2002508324 T WO 9930710 A1 US 6107305 A ZA 9811178 A	23-05-2002 05-07-1999 24-06-1999 18-10-2000 19-03-2002 24-06-1999 22-08-2000 07-06-2000
WO 2004078733	A1	16-09-2004	US	2004248890 A1	09-12-2004
WO 2004064778	A2	05-08-2004		NONE	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
 CIB 7 C07D471/04 A61K31/437 A61P35/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
 CIB 7 C07D A61K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 02/12242 A2 (PHARMACIA & UPJOHN S.P.A., ITALY) 14 février 2002 (2002-02-14) revendications 1,9-13,24-27 -----	1,3,7,8, 10,19-24
X	WO 96/12720 A (PFIZER INC.) 2 mai 1996 (1996-05-02) cité dans la demande revendication 1 -----	1,2,9, 19,20,23
		-/-

Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée 5 janvier 2005	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale 26/01/2005
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Fonctionnaire autorisé Bosma, P

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

nde Internationale No
.../FR2004/001778

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	KROGSGAARD-LARSEN P. ET AL.: "GABA agonists. Synthesis and structure-activity studies on analogues of isoguvacine and THIP" EUROPEAN JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY., vol. 14, no. 2, 1979, pages 157-164, XP002268840 EDITIONS SCIENTIFIQUE ELSEVIER, PARIS., FR ISSN: 0223-5234 cité dans la demande * tableau I, composés 17, 20, 23 *	1,20-24
X	MORENO-MANAS, MARCIAL ET AL: "Palladium-catalyzed allylation of 3-hydroxyisoxazole, 5-isoxazolone and 5-pyrazolone systems" TETRAHEDRON, CODEN: TETRAB; ISSN: 0040-4020, vol. 50, no. 2, 1994, pages 515-528, XP000652008 composé 4 page 516	1
A	WO 03/024969 A (MERCK & CO., INC.) 27 mars 2003 (2003-03-27) * schéma E et revendications 1 et 11 *	1,2, 20-24
A	FR 2 831 537 A (AVENTIS PHARMA S.A.) 2 mai 2003 (2003-05-02) le document en entier	1,2, 20-24
A	WO 99/30710 A (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO.) 24 juin 1999 (1999-06-24) le document en entier	1,20-24
X,P	KREHAN, DORTE ET AL: "Aza-THIP and related analogues of THIP as GABAC antagonists" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, CODEN: BMECEP; ISSN: 0968-0896, vol. 11, no. 23, 2003, pages 4891-4896, XP002312461 le document en entier	1,20
E	WO 2004/078733 A1 (VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED, USA) 16 septembre 2004 (2004-09-16) revendication 1; exemple 194	1
E	WO 2004/064778 A2 (MERCK & CO. INC., USA) 5 août 2004 (2004-08-05) intermédiaires; revendication 9; exemples 11,12	1

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

mentionnent le

aux membres de familles de brevets

de Internationale No

.../FR2004/001778

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
WO 0212242	A2	14-02-2002	AU	8765401 A	18-02-2002
			BR	0113176 A	17-06-2003
			CA	2416527 A1	14-02-2002
			CN	1447810 T	08-10-2003
			CZ	20030591 A3	18-06-2003
			EP	1320531 A2	25-06-2003
			HU	0300741 A2	28-11-2003
			JP	2004505977 T	26-02-2004
			MX	PA03001169 A	30-06-2003
			NO	20030381 A	24-02-2003
			NZ	524475 A	26-11-2004
			PL	360663 A1	20-09-2004
			SK	1882003 A3	03-06-2003
			US	2003171357 A1	11-09-2003
WO 9612720	A	02-05-1996	AU	702105 B2	11-02-1999
			AU	3531795 A	15-05-1996
			AU	9240298 A	21-01-1999
			BR	9504491 A	20-05-1997
			CA	2201728 A1	02-05-1996
			CN	1161040 A ,B	01-10-1997
			CZ	9701200 A3	14-01-1998
			EP	0787132 A1	06-08-1997
			FI	954991 A	21-04-1996
			HU	77517 A2	28-05-1998
			WO	9612720 A1	02-05-1996
			JP	9511758 T	25-11-1997
			NO	971811 A	18-06-1997
			NZ	292991 A	25-02-1999
			PL	319758 A1	18-08-1997
			ZA	9508839 A	21-04-1997
WO 03024969	A	27-03-2003	WO	03024969 A1	27-03-2003
FR 2831537	A	02-05-2003	FR	2831537 A1	02-05-2003
			BR	0213562 A	31-08-2004
			CA	2465247 A1	01-05-2003
			EP	1441725 A1	04-08-2004
			WO	03035065 A1	01-05-2003
			US	2004048868 A1	11-03-2004
WO 9930710	A	24-06-1999	AU	747705 B2	23-05-2002
			AU	1629799 A	05-07-1999
			CA	2314355 A1	24-06-1999
			EP	1043998 A1	18-10-2000
			JP	2002508324 T	19-03-2002
			WO	9930710 A1	24-06-1999
			US	6107305 A	22-08-2000
			ZA	9811178 A	07-06-2000
WO 2004078733	A1	16-09-2004	US	2004248890 A1	09-12-2004
WO 2004064778	A2	05-08-2004	AUCUN		